UNDERSØGELSER OVER MET- OG SULFHÆMOGLOBIN MED SÆRLIGT HENBLIK PÅ MEDICAMENTEL CYANOSE

AF

PREBEN EILERSEN

1957

UNDERSØGELSER OVER MET- OG SULFHÆMOGLOBIN MED SÆRLIGT HENBLIK PÅ MEDICAMENTEL CYANOSE

Forsvaret finder sted torsdag den 5. september 1957 kl. 14 pr.
i annexauditorium A, Studiestræde 6 o. g.

UNDERSØGELSER OVER MET- OG SULFHÆMOGLOBIN MED SÆRLIGT HENBLIK PÅ MEDICAMENTEL CYANOSE

AF

PREBEN EILERSEN

1957

54/21/57

Denne afhandling er af det lægevidenskabelige fakultet ved Københavns universitet antaget til offentlig at forsvares for den medicinske doktorgrad.

København, den 2. april 1957.

Knud Brøchner-Mortensen,
h. a. dec.

PRINTED IN DENMARK
BY BIANCO LUNOS BOGTRYKKERI A/S . KØBENHAVN

FORORD

Det foreliggende arbejde udførtes på Sygekasselægernes Organisations Laboratorium i årene 1952—1956 under min ansættelse som kandidat ved københavnske hospitalsafdelinger. Arbejdet afsluttedes april 1956.

Formanden for Sygekasselægernes Organisations Laboratorieudvalg dr. *William Ottesen* beder jeg modtage min tak til laboratoriet for tilladelse til at foretage mine undersøgelser der og for de udmærkede arbejdsbetingelser, som laboratoriet har givet mig.

En ganske særlig tak skylder jeg laboratoriets leder, overlæge, dr. med. *Mogens Faber* for den store interesse, han har vist mit arbejde, og for den utrættelighed, hvormed han altid har været parat til at opmuntre og vejlede mig. Hans viden og videnskabelig sans har været mig en stadig inspiration og af uvurderlig betydning for dette arbejdes tilblivelse.

Sekretær fru *Lissen Bodenhoff* og laboratoriets assistenter er jeg tak skyldig for velvillig assistance.

For lærerige samtaler takker jeg civilingeniør fru *Gerda Fischer-Jørgensen* og overlæge *Gregers Sørensen.*

En række kliniske undersøgelser udførtes på Bispebjerg Hospitals afdeling B. For tilladelse til at udføre disse undersøgelser bringer jeg afdelingens daværende chef professor, dr. med. *Einar Meulengracht* min tak. Jeg vil også gerne takke de mange sygeplejersker, der har hjulpet mig med mine undersøgelser.

For tilladelse til at låne journaler fra en række hospitalsafdelinger bringer jeg cheferne min tak.

Kemikalier til de kliniske undersøgelser stilledes til rådighed af A/S Medicinalco, som jeg herved takker.

Overlæge, dr. med. *Valdemar Kornerup* takker jeg for udførelse af analyserne for foetalt hæmoglobin.

Résuméet er oversat til engelsk af translatør, fru *Anna la Cour.*

Juli 1957.

Preben Eilersen.

INDHOLDSFORTEGNELSE

1 kapitel. Medicamentel cyanose 11
1. Indledning 11
a. Definition af begrebet cyanose 11
b. Årsager til cyanose 11
2. Methæmoglobinæmi 14
a. Methæmoglobinets egenskaber 14
b. Dannelse af methæmoglobin in vitro og in vivo 14
c. Spontan reduktion af methæmoglobin i blodet 15
d. Congenit familiær methæmoglobinæmi 16
e. Methæmoglobinindholdet i blod fra normale personer 17
f. Methæmoglobinæmi efter medicamentel eller industriel forgiftning 17
g. Methæmoglobinæmi hos spædbørn 20
h. Symptomer ved methæmoglobinæmi 21
i. Behandling af methæmoglobinæmi 22
j. Enterogen methæmoglobinæmi 22
3. Sulfhæmoglobinæmi 23
a. Sulfhæmoglobinets egenskaber 23
b. Dannelse af sulfhæmoglobin in vitro og in vivo 24
c. Experimentelt fremkaldt sulfhæmoglobinæmi 25
d. Enterogen sulfhæmoglobinæmi 26
e. Medicamentel sulfhæmoglobinæmi 27
f. Symptomer ved sulfhæmoglobinæmi 29

2. kapitel. Kvantitativ hæmoglobinbestemmelse 30
1. De anvendte metoder til hæmoglobinbestemmelse 31
a. Gasometrisk iltkapacitetsbestemmelse 31
b. Gasometrisk kuliltekapacitetsbestemmelse 31
c. Spektrofotometrisk hæmoglobinbestemmelse 33
2. Egne undersøgelser 33
a. Spektrofotometrisk bestemmelse af oxyhæmoglobin og reduceret hæmoglobin . 34
b. Sammenligning af resultaterne ved gasometriske og spektrofotometriske hæmoglobinbestemmelser 37

3. kapitel. Kvalitativ og kvantitativ methæmoglobinbestemmelse 39
1. Kvalitativ prøve til påvisning af methæmoglobin 39
2. De anvendte metoder til kvantitativ methæmoglobinbestemmelse 39
a. Gasometrisk bestemmelse af aktivt hæmoglobin og totalhæmoglobin 40
b. Spektrofotometrisk metode med anvendelse af cyanidtilsætning til blodet 40
c. Spektrofotometrisk metode efter Hunter 42

3. Egne undersøgelser. Sammenligning af resultaterne ved gasometriske og spektrofotometriske methæmoglobinbestemmelser ... 44

4. kapitel. Kvalitativ og kvantitativ sulfhæmoglobinbestemmelse ... 45
1. Kvalitativ prøve til påvisning af sulfhæmoglobin ... 45
2. Kvantitative metoder til bestemmelse af sulfhæmoglobin ... 46
3. Choleglobin ... 50
a. Fremstilling og egenskaber ... 51
b. Metode til kvantitativ bestemmelse af choleglobin ... 51
4. Kvantitativ metode til samtidig bestemmelse af sulfhæmoglobin og choleglobin ... 54
5. Egne undersøgelser ... 55
a. Fremstilling af sulfhæmoglobin ... 55
b. Bestemmelse af hæmoglobinbundet jern i blod før og efter behandling med svovlbrinte ... 58
c. Bestemmelse af sulfhæmoglobin og kuliltesulfhæmoglobins specifike extinktioner ved henholdsvis 620 og 617 mμ ... 59
d. Sulfhæmoglobins absorptionskurve mellem 500 og 700 mμ ... 65
e. Egen teknik til kvantitativ sulfhæmoglobinbestemmelse ... 66
f. Sammenligning af resultaterne af sulfhæmoglobinbestemmelser efter forskellige metoder ... 66

5. kapitel. Teorier om carbhæmoglobinforbindelser og paraaminofenol som årsag til medicamentel cyanose ... 71
1. Kallners teori om mørktfarvede komplexe forbindelser af carbhæmoglobin og indtagne medikamenter som årsag til medicamentel cyanose ... 71
2. Egne undersøgelser af absorptionsforholdene i den røde del af spektret i blod efter tilsætning af acetanilid, sulfonamid eller chloranilin ... 74
3. Teori om paraaminofenol som årsag til medicamentel cyanose ... 85
a. Forsøg med paraaminofenoltilsætning til blod ... 90

6. kapitel. Humane forsøg med methæmoglobin- og sulfhæmoglobindannende stoffer ... 94
1. Undersøgelse af normalt blod for methæmoglobin og sulfhæmoglobin ... 94
2. Experimentelt fremkaldt methæmoglobinæmi efter indgift af chloranilin, chloracetanilid, chlornitrobenzol og nitrophenetol ... 96
3. Experimentelt fremkaldt sulfhæmoglobinæmi efter indgift af magniumsulfat og chloranilin ... 100
4. Betydningen af hurtig analyse ved undersøgelse af blod for methæmoglobin ... 106

7. kapitel. Undersøgelse af patienter med methæmoglobinæmi og sulfhæmoglobinæmi ... 109
1. Patientmaterialet ... 109
2. De sygdomme, der foranledigede indtagelse af met- og sulfhæmoglobindannende stoffer ... 110
3. De met- og sulfhæmoglobinfremkaldende stoffer ... 118
4. Hæmoglobinkoncentrationens afhængighed af met- eller sulfhæmoglobinæmi ... 121
5. Varigheden af met- og sulfhæmoglobinæmi ... 124

Resumé ... 132
Engelsk resumé ... 139
Litteraturfortegnelse ... 147
Sagregister ... 153

1. kapitel.

MEDICAMENTEL CYANOSE

INDLEDNING

Farven af hud og slimhinder spiller en vigtig rolle i bedømmelsen af helbredstilstanden hos mennesker. Hudens farve er betinget af mængden og farven af blodet i hudens kapillærer, som igen er betinget af kredsløbets forhold. Farven påvirkes yderligere af tykkelsen af epidermis og af hudens pigmentindhold.

Den normale hudfarve er hos den hvide race svagt lyserød med et brunligt islæt afhængig af hudens pigmentindhold. De normale slimhinders farve er blegrød. Ved patologiske tilstande kan hudens og slimhindernes farve afvige fra det normale.

Et vigtigt og hyppigt symptom i klinikken er cyanose, hvorved man forstår en abnorm blåfarvning af hud, slimhinder og organer forårsaget af en abnorm mørk farve af det cirkulerende blod. Betegnelsen cyanose er først anvendt i begyndelsen af det 19. århundrede (*Gintrac* 1814). Den hyppigste årsag til cyanose er, at kapillærblodet indeholder reduceret hæmoglobin i større mængde end normalt. Spørgsmålet om cyanose af denne årsag er blandt andet behandlet af *Lundsgård og van Slyke* (1923). Kapillærblodets indhold af reduceret hæmoglobin ligger almindeligvis midt mellem arterie- og veneblodets indhold, men forholdene kan kompliceres ved abnorme kredsløbsforhold. Kapillærblodet indeholder normalt 2—3 g reduceret hæmoglobin per 100 ml blod. Cyanose fremkommer, når kapillærblodet indeholder mere end 5 g reduceret hæmoglobin per 100 ml blod, d. v. s. når ⅓—¼ af kapillærblodets hæmoglobin findes i reduceret form.

Cyanose af denne art kan opstå på forskellig måde. For det første kan cyanosen opstå, når det arterielle blod, der normalt indeholder mellem 95 og 100 pct. oxyhæmoglobin, er ufuldstændigt iltet. Dette ses ved congenite hjertelidelser, hvor der er en abnorm forbindelse mellem højre og venstre hjertehalvdel, således at venøst blod passerer fra højre over i venstre hjertehalvdel og der opblandes med det arterielle. Ufuldstændigt iltet arterielt blod kan desuden findes ved acute og chroniske lungelidelser, hvor der sker en ufuldstændig iltoptagelse i lungekapillærerne.

Ved en anden form for cyanose er arterieblodets indhold af oxyhæmo-

globin normalt, medens veneblodets og dermed kapillærblodets indhold af reduceret hæmoglobin er abnormt højt. Denne form for cyanose ses ved acute og chroniske hjertelidelser med stasesymptomer. Ved shock ses cyanose på grund af ophobning af blod i kapillærerne. Ved disse former for cyanose er grunden til kapillærblodets mørke farve, at kapillærblodet cirkulerer langsomt og derved får et iltindhold, der ligger nær vævenes. Dette resulterer i, at det kommer til at indeholde større mængder reduceret hæmoglobin end ved normale kredsløbsforhold. Disse forhold er herhjemme undersøgt af *Ipsen* (1927).

Man blev tidligt klar over, at cyanose kan forekomme hos patienter, der ikke frembyder tegn på lunge- eller kredsløbsinsufficiens. Blandt de første, der beskrev cyanose af denne art, var *Lépine* (1886), *Rayner* (1886), *Marchand* (1887), *Dittrich* (1892) og herhjemme *Müller* (1887 a og b) og *Christensen* (1891). De iagttog hos deres patienter en ejendommelig mørk, gråblå cyanose, som ikke kunne forklares ved lunge- eller kredsløbsinsufficiens. Fælles for disse patienter var, at de enten havde indtaget smertestillende midler, eller at de havde været udsat for en industriel forgiftning eller anden ulykkelig hændelse. En undersøgelse af blodet viste, at det var påfaldende mørkt og brunligt, og ved spektroskopisk undersøgelse viste det sig, at årsagen til den mørke farve var tilstedeværelsen af hæmoglobinderivatet methæmoglobin, der først blev fremstillet og beskrevet i laboratoriet af *Hoppe-Seyler* 1865.

Lépine (1886) beskrev som den første methæmoglobinæmi efter indtagelse af acetanilid og phenacetin. Herhjemme beskreves methæmoglobinæmi først af *Müller* (1887 a og b) efter acetanilid og af *Christensen* (1891) efter phenacetin.

Foruden denne medicamentelle cyanose beskreves tidligt cyanose forårsaget af methæmoglobinæmi efter industriel forgiftning med anilin og nitrobenzol (*Dittrich* 1892).

I 1886 beskrev *Rayner* cyanose hos spædbørn på grund af methæmoglobinæmi fremkaldt af anilinfarvestoffer resorberet fra stempler på børnenes bleer.

Langt senere blev man klar over, at medicamentel cyanose kan skyldes et andet patologisk hæmoglobinderivat, sulfhæmoglobin. Sulfhæmoglobin blev oprindeligt fremstillet og beskrevet i laboratoriet af *Hoppe-Seyler* (1863).

I 1922 påviste *Snapper* cyanose forårsaget af sulfhæmoglobinæmi hos patienter, der gennem lang tid havde indtaget phenacetin. Sulfhæmoglobinæmi efter indtagelse af svovl eller magniumsulfat beskreves af *van den Bergh og Engelkes* (1922 a og b). I 1931 viste *van den Bergh* og *Revers*, at magniumsulfats sulfhæmoglobindannende evne forstærkedes ved samtidig indtagelse af pyridin.

Senere har man foruden de nævnte stoffer fundet andre, der kan bevirke met- og sulfhæmoglobindannelse.

I sjældne tilfælde lykkes det ikke at påvise medicamentel eller anden forgiftning som årsag til cyanosen.

I 1902 fandt *Stokvis* betydelig cyanose hos en ung mand med chronisk diarrhoe. I hans blod påvistes methæmoglobin. Da der ikke kunne påvises anden årsag til methæmoglobindannelsen, antog *Stokvis,* at den skyldtes forgiftningsprodukter resorberet fra den syge tarm, og indførte betegnelsen »autotoxisk enterogen cyanose«. Samme år beskrev *Talma* 3 tilfælde af cyanose på grund af methæmoglobinæmi hos patienter med tarmlidelse.

I 1905 beskrev *van den Bergh* sulfhæmoglobinæmi hos en patient med cyanose. Han antog, at sulfhæmoglobinæmien opstod på grund af resorption af svovlbrinte dannet i den syge tarm, og kaldte sygdommen for »enterogen sulfhæmoglobinæmi«. Klassisk er hans beskrivelse af sulfhæmoglobinæmi hos en niårig dreng med congenit strictura ani. Hos en anden patient med langvarig diarrhoe fandt *van den Bergh* methæmoglobinæmi. Det lykkedes ham at påvise nitrit i tarmen. Han antog, at dette var dannet af nitritdannende bakterier, og at methæmoglobindannelsen skyldtes resorption af nitrit.

En uhyre sjælden form for cyanose skyldes den af *Hitzenberger* (1933) beskrevne »idiopatiske eller familiære methæmoglobinæmi«, hvor der kan påvises methæmoglobin i blodet fra fødselen og livet igennem.

Endelig kan nævnes, at cyanose på grund af methæmoglobinæmi kan optræde hos spædbørn, der har fået mælkeblandinger fremstillet af nitratholdigt vand. Dette fænomen blev først beskrevet af *Comly* (1945).

Den medicamentelle cyanose tilskrives som nævnt almindeligvis dannelse af met- eller sulfhæmoglobin, men undertiden har det været umuligt at påvise disse pigmenter trods iøjnefaldende cyanose. I disse tilfælde har man, hvor der er tale om cyanose efter indtagelse af acetanilid eller phenacetin, tænkt sig, at disse omdannes til paraaminofenol, der ved ophobning i blodet giver dette en mørk farve (*Young og Wilson* (1926), *Lundsteen, Meulengracht og Richel* 1937). *Kallner* (1942) antog, at cyanose efter sulfanilamidindgift skyldes, at der dannes en komplex forbindelse i blodet mellem carbhæmoglobin og sulfanilamid, og at denne forbindelse giver blodet en mørk farve.

Ved siden af cyanosen kan ses andre forgiftningssymptomer afhængig af hvilket stof, der har fremkaldt forgiftningen. I denne redegørelse skal man udelukkende holde sig til symptomet cyanose, der kan optræde såvel ved den acute som ved den chroniske forgiftning med de cyanosefremkaldende stoffer. Ved de chroniske forgiftninger er cyanose som regel hovedsymptomet, idet de øvrige symptomer træder i baggrunden, og patienterne trods

fremtrædende cyanose er lidet medtagne. Cyanosen viser sig ved en ejendommelig kølig, mørk, gråblå eller mere violet misfarvning, der i regelen let kendes fra den cyanose, der skyldes cardiopulmonal insufficiens. Cyanosen ses særligt på legemets perifere dele som fingre, tæer, øren, læber og kinder, medens den er mindre fremtrædende på kroppen. Karakteristisk er desuden blåfarvning af slimhinder, især tungens og kindens. (*Lundsteen, Meulengracht og Richel* 1937).

METHÆMOGLOBINÆMI

Den bedst kendte årsag til cyanose fremkaldt af et patologisk blodpigment er methæmoglobinæmi.

Methæmoglobin er et oxydationsprodukt af det normale hæmoglobin, men mangler dettes evne til reversibelt at optage og afgive ilt. I methæmoglobin findes jern som ferrijern (*Küster* (1926), *Conant og Scott* 1926 og 1928). Methæmoglobin benævnes tillige hemiglobin eller ferrihæmoglobin. Opløsninger af methæmoglobin er brunlige, mørke og antager ikke ved rystning i luft oxyhæmoglobinets højrøde farve.

Methæmoglobinets øvrige fysiske og kemiske egenskaber, samt spørgsmålet om dets identificering og kvantitative bestemmelse vil blive gennemgået i et særligt kapitel.

Dannelse af methæmoglobin beror som anført på en iltning af oxyhæmoglobin. Denne iltning kan komme i stand enten ved en direkte virkning af iltende stoffer som kaliumferricyanid, kaliumklorat, nitriter, kinoner og brintoverilte eller ved en indirekte virkning af brintdonorer. Som brintdonorer virker ascorbinsyre, aminofenoler, fenylhydrazin, fenylhydroxylamin og metylenblåt. Disse stoffer kan ved nærværelse af ilt omdanne oxyhæmoglobin til methæmoglobin. For metylenblåts vedkommende kan processen tænkes at ske ved, at metylenblåt omdanner oxyhæmoglobin til methæmoglobin, hvorved det selv reduceres til leucometylenblåt. Leucometylenblåt omdannes igen til metylenblåt af atmosfærens ilt, hvorefter processen skrider videre.

Lemberg, Legge og Lockwood (1939) antog, at brintdonorer sammen med oxyhæmoglobin danner brintoverilte, der omdanner oxyhæmoglobin til methæmoglobin enten direkte eller gennem en intermediær forbindelse af hæmoglobin og brintoverilte.

Endelig kan der ske en autooxydation af oxyhæmoglobin ved henstand, hvorved der dannes methæmoglobin. Denne omdannelse foregår i normalt eller hæmolyseret blod ved henstand i luften. (*Schjerning-Thiesen* 1953). Grunden til denne autooxydation antages at være, at der i blodet findes brintdonorer som ascorbinsyre og proteinstoffer. Også hæmoglobinets globin

antages at kunne virke som brintdonor, hvorfor der også vil ske en methæmoglobindannelse i rene hæmoglobinopløsninger. Autooxydationen sker kun ved tilstedeværelse af ilt og foregår hurtigst ved et ilttryk omkring 25 mm (*Neill* 1925 a, b, c, d). En sådan dannelse af methæmoglobin sker ikke blot i blod, der henstår i luften, men også i den menneskelige organisme.

Inden der gives en nøjere beskrivelse af methæmoglobindannelsen efter indgift af forskellige medikamenter, skal der gives en beskrivelse af de processer, der i den normale organisme bevirker en tilbagedannelse af methæmoglobin til hæmoglobin.

Det er en almindelig iagttagelse, at methæmoglobin forsvinder hurtigt fra blodet i den normale organisme. Dette antages at bero på, at der i blodet, straks efter at methæmoglobindannelsen begynder, foregår reducerende processer, der stræber mod at fjerne methæmoglobinet fra organismen.

Jung (1939) undersøgte reduktionsforholdene hos katte ved at injicere methæmoglobinholdige røde blodlegemer og fandt, at 5 g methæmoglobin i 100 ml blod forsvandt på 5 timer.

Gelinsky (1940) udførte samme forsøg på rotter og marsvin og fandt, at 5 g methæmoglobin per 100 ml blod forsvandt på 4 timer hos rotter, men på 1 time hos marsvin.

Cox og Wendel (1942) fremkaldte methæmoglobinæmi på hunde ved indgift af natriumnitrit og fandt, at methæmoglobinet svandt med lige store mængder per time.

Kiese (1947) undersøgte på hunde, hvorledes methæmoglobinet svandt dels efter nitritindgift og dels efter injection af methæmoglobinholdige erythrocyter. Han fandt, at methæmoglobinet svandt langsomst efter nitritindgift, og antog, at dette beroede på, at der samtidig med methæmoglobinreduktionen fandt en ny methæmoglobindannelse sted fremkaldt af overskud af nitrit.

Også hos mennesker svinder methæmoglobin hurtigt fra blodet. *Schmith og Madsen* (1950) undersøgte en patient, der var cyanotisk efter indtagelse af 8 phenacetintabletter forurenet med 0.6 pct. chloracetanilid, og fandt 4.2 pct. methæmoglobin i patientens blod. Cyanosen og methæmoglobinet var svundet på et døgn.

Reduktionen af methæmoglobin i erythrocyterne antages at bero på enzymatiske processer. *Warburg og Christian* (1931) fandt i hesteerythrocyter et enzym, som bevirkede en reduktion af methæmoglobin til hæmoglobin ved tilstedeværelse af heksosemonofosfat. Enzymet var en dehydrogenase, et højmolekylært proteinstof, der oprindeligt benævntes »zwischenferment«. Enzymet benævnes nu i almindelighed heksosemonofosfatdehydrogenase. I 1935 viste *Warburg, Christian og Griese,* at coenzymet for

dette enzym var en forbindelse af et molekyle adenin, et molekyle nikotinsyreamid, 2 molekyler rhibose og 3 molekyler fosforsyre. Forbindelsen kaldte de trifosforpyridinnucleotid. I den nyere litteratur går dette coenzym under navnet codehydrogenase II. *Kiese* (1944) isolerede fra hesteblod et enzym, som han kaldte »methæmoglobinreduktase«. Han mente, at dette enzym foruden heksosemonofosfatdehydrogenase og codehydrogenase II var nødvendigt for methæmoglobinreduktionen. Foruden ved nærværelse af heksosemonofosfat kunne reduktionen ske ved nærværelse af glukose, fruktose, heksosedifosfat eller mælkesyre. Hvis der ikke var eet af disse stoffer til stede, kunne reduktionen ikke foregå. Den enzymatiske proces hæmmedes af fluorid (*Kiese* 1944). *Gutmann, Jandorf og Bodansky* (1947) vidste, at også difosforpyridinnucleotid kunne fungere som coenzym for de nævnte enzymer. Difosforpyridinnucleotid er identisk med codehydrogenase I, der består af et molekyle adenin, et molekyle nikotinsyreamid, 2 molekyler rhibose og 2 molekyler fosforsyre.

En forøget dannelse af methæmoglobin i blodet kan således opstå enten ved et brud på dette reduktionssystem eller ved en så stærk virkning af iltende stoffer, at den normale reducerende cellevirksomhed ikke kan holde trit med methæmoglobindannelsen. Begge årsager kendes.

Inden beskrivelsen af den medicamentelle methæmoglobinæmi skal nævnes en ejendommelig sygdom, hvor der i blodet er et abnormt indhold af methæmoglobin på grund af manglende evne til at reducere det spontant dannede.

I 1933 beskrev *Hitzenberger* et tilfælde af methæmoglobinæmi hos en 23årig mand. Han havde været cyanotisk siden fødselen. Patienten havde 2 brødre, der også havde været cyanotiske siden fødselen. Der fandtes 40 pct. methæmoglobin i patientens blod. *Hitzenberger* mente, at det drejede sig om et nyt sygdomsbillede, og indførte betegnelsen »congenit familiær methæmoglobinæmi«. Sygdommen er sjælden, men der er dog beskrevet enkelte tilfælde (*van Lier* (1933), *van Thienen* (1933), *Leiner og Minibeck* (1935), *Bensley, Rhea og Mills* (1938), *Lian, Frumusan og Sassier* (1939), *Deeny, Murdock og Rogan* (1939), *Barcroft* og medarbejdere (1944), *Sievers og Ryan* (1945), *King* og medarbejdere (1947), *Gibson og Harrison* (1947), *Eder, Finch og McKee* (1949), *Breakey, Gibson og Harrison* (1951), *Gasul* og medarbejdere (1952) og *Codounis* (1952)). Flere af disse patienter havde omkring 40 pct. methæmoglobin i deres blod. Patienterne er i regelen lidet påvirkede af sygdommen, men kan dog være generet af hovedpine og træthed. Ved undersøgelse af blodet fra patienter med congenit methæmoglobinæmi findes intet spontant svind af methæmoglobinet ved henstand. Dette antages at bero på en medfødt defekt i de røde blodlegemers enzymsystem, hvorved deres evne til at redu-

cere methæmoglobin mangler. At forklaringen er denne, er vist på overbevisende måde af *Eder, Finch og McKee* (1949). Deres patient var en 23årig mand, der siden fødselen havde været cyanotisk. Hans blod indeholdt 40 pct. methæmoglobin. Det vistes, at blandedes røde blodlegemer fra patienten med plasma fra en normal person, kom der intet svind i methæmoglobinindholdet i blodlegemerne. Blandedes plasma fra patienten med røde blodlegemer fra en normal person, kom der ingen methæmoglobindannelse. Ved et andet forsøg vistes det, at reduceredes methæmoglobinet i patientens blod ved injection af metylenblåt, gendannedes methæmoglobin på nogle dage. Injiceredes blod fra patienten efter reduktion med metylenblåt i en normal person, opstod der methæmoglobinæmi i løbet af nogle dage. Det sluttedes heraf, at patientens methæmoglobinæmi skyldtes en defekt i de røde blodlegemer, hvorved han ikke var i stand til at reducere methæmoglobin.

Med kendskabet til den congenite methæmoglobinæmi og de nævnte enzymsystemer antager man nu, at der i blodet hos normale mennesker sker en stadig dannelse af methæmoglobin og samtidig en reduktion af det dannede methæmoglobin.

Om blod fra normale mennesker indeholder methæmoglobin har længe været diskuteret. Enkelte forfattere (*Ammundsen* (1937, 1939 og 1941), *Ammundsen og Trier* (1939), *Havemann, Jung og Issekutz* (1939) og *Ramsay* (1944)) har fundet indtil 12 pct. methæmoglobin i blod fra normale personer. *Ammundsen og Ramsay* bestemte methæmoglobin med gasometrisk teknik. Deres værdier antoges af *Kallner* (1942) og af *van Slyke* og medarbejdere (1946) at være for høje. Grunden til den forkerte bestemmelse vistes af *Kallner* at være, at man ved bestemmelsen i van Slykeapparatet havde arbejdet med for lavt kuliltetryk. I de seneste år er man kommet til det resultat, at blod fra normale mennesker ikke indeholder methæmoglobin eller i hvert fald kun i minimale mængder. Ved colorimetrisk bestemmelse fandt *Heubner* (1940) gennemsnitlig 1.7 pct. methæmoglobin i normalt menneskeblod. *Paul og Kemp* (1944) fandt 0—0.5 pct. og *Drabkin og Schmidt* (1945) under 0.5 pct. methæmoglobin i blod fra normale. *Van Slyke* og medarbejdere (1946) fandt ved gasometrisk bestemmelse 1.3 pct. methæmoglobin hos normale.

Den hyppigste årsag til methæmoglobindannelse in vivo er indtagelse af methæmoglobindannende stoffer. En del af disse findes blandt de almindelige lægemidler eller som forurening af disse. Andre anvendes i industrien, og endelig kan der af og til findes methæmoglobindannende stoffer i føden og i drikkevandet.

Methæmoglobinæmiens grad vil afhænge af det indgivne stofs art og mængde, administrationsmåden (oralt eller parenteralt), eventuel omdan-

nelse af stoffet i tarmen, resorptionshastigheden, hastigheden, hvormed stoffet igen udskilles, og den normale methæmoglobinreduktionshastighed.

Det vil være rimeligt at skelne mellem direkte oxyderende og indirekte oxyderende stoffer. Direkte oxyderende stoffer danner methæmoglobin såvel in vitro som in vivo.

En kraftig methæmoglobindanner er nitrit. Som vist af *Greenberg, Lester og Haggard* (1943) danner et nitritmolekyle 2 molekyler methæmoglobin af 2 molekyler oxyhæmoglobin. Den kraftige methæmoglobindannende effekt er undersøgt i dyreforsøg af *Haldane og medarbejdere* (1897), *Sakurai* (1925) og *Issekutz* (1939).

Methæmoglobinæmi hos mennesker som følge af nitritforgiftning er beskrevet efter indtagelse af præserverede fødemidler tilsat nitrat. *Schrader* (1941) beskrev 10 tilfælde af denne art. De 3 tilfælde forløb dødeligt. Han fandt nitrit i de indtagne fødemidler og antog, at dette var dannet af nitrat i tidens løb ved bakterielle processer.

I forbindelse med methæmoglobinæmi efter indtagelse af nitriter skal nævnes methæmoglobinæmi efter indtagelse af nitrater. Det antages, at nitrat i tarmen kan reduceres til nitrit af bakterier, hvorefter nitrit resorberes og danner methæmoglobin.

Anvendelse af vismuthnitrat i klinikken har i nogle tilfælde givet anledning til dannelse af methæmoglobin, i enkelte tilfælde endda til dødeligt forløbende methæmoglobinæmi (*Bennecke og Hoffmann* (1906), *Böhme* (1907), *Nowak og Gütig* (1908), *Roe* (1933), *Miller* (1944) og *Miller* (1945)).

Ammoniumnitrat, der har været et almindeligt anvendt diureticum, har i sjældne tilfælde foranlediget methæmoglobinæmi (*Eusterman og Keith* (1929) og *Tarr* (1933)). Det synes, som om tilstedeværende nyrebeskadigelse befordrer methæmoglobindannelsen.

Andre methæmoglobindannere, der bevirker en direkte iltning af oxyhæmoglobin, er klorater, kinoner og brintoverilte. Kaliumferricyanid er en kraftig methæmoglobindanner og anvendes hyppigt til methæmoglobinfremstilling i laboratoriet.

En lang række amino- og nitroforbindelser er kraftige methæmoglobindannere in vivo. Nævnes kan anilin, acetanilid, phenacetin, nitrobenzol, dinitrobenzol, trinitrobenzol, paraaminofenol, paraaminoacetofenol, paraaminopropiofenol, fenylhydrazin, fenylhydroxylamin, nitrotoluol og sulfonamider. Talrige forsøg er i tidens løb udført for at klarlægge deres methæmoglobindannende evne. De fleste forsøg er udført på dyr. Det er interessant, at forskellige dyrearter har vidt forskellig evne til at danne methæmoglobin. Katten angives at være en særlig god methæmoglobindanner. Systematiske undersøgelser af forskellige dyrearters evne til at danne

methæmoglobin er udført af *Lester* (1943) og *Spicer* (1950). De fandt den største evne hos katten, dernæst med aftagende evne menneske, hund, rotte, kanin og abe. Af disse er kaniner og aber decideret dårlige methæmoglobindannere.

Af de nævnte stoffer er aminofenoler og fenylhydroxylaminer også gode methæmoglobindannere in vitro (*Heubner* (1913), *Lipschitz* (1920) og *Ellinger* (1920)).

Heubner (1913), *Heubner og Schwedtke* (1937), *Heubner og Lo-Sing* (1938), *Rimington* (1939) og *Rimington og Hemmings* (1939) antog, at de forskellige nitro- og aminoforbindelser in vivo omdannes til paraaminofenol, og at paraaminofenol omdannes til iminokinon, der omdanner oxyhæmoglobin til methæmoglobin. Processen kan gentage sig, hvorved flere molekyler oxyhæmoglobin kan omdannes til methæmoglobin.

Denne teori afvistes af *Greenberg og Lester* (1946 og 1947), idet de trods rigelig methæmoglobindannelse efter acetanilidindgift kun fandt minimale mængder paraaminofenol i forsøgspersonernes blod.

Lipschitz (1920) og *Ellinger* (1920) anså fenylhydroxylamin for at være det virksomme intermediære agens i methæmoglobindannelsen. Det må dog siges, at det endnu er uvist, hvilke intermediære omsætningsprodukter af amino- og nitroforbindelser, der er ansvarlige for methæmoglobindannelsen.

Af de nævnte stoffer angives følgende at være særlig gode methæmoglobindannere: paradinitrobenzol (*Heubner og Lo-Sing* 1938), fenylhydroxylamin (*Issekutz* 1939), paraaminopropiofenol og paraaminoacetofenol (*Vandenbelt og medarbejdere* (1944) og *Bodansky og Gutmann* (1947)).

Bredow og Jung (1942) viste, at samme dosis methæmoglobindannende stof givet til forskellige individer af samme dyreart gav varierende mængde methæmoglobin per kilo. Dette antoges at bero på forskellig evne til at omsætte giften eller på forskellig kapacitet af det methæmoglobinreducerende system. *Reiter* (1948) viste, at methæmoglobindannelsen per vægtenhed methæmoglobindannende stof aftog ved høje doseringer.

Af særlig interesse i klinikken er methæmoglobindannelse efter sulfonamid, phenacetin og acetanilid. Talrige tilfælde af methæmoglobinæmi er set efter indtagelse af phenacetin og acetanilid (*Lépine* (1886), *Müller* (1887 a, b), *Herrmann* (1890 og 1891), *Christensen* (1891), *Dittrich* (1892), *Paulsen* (1895), *Dennig* (1900), *Clemmesen* (1933), *Espersen* (1937), *Lundsteen, Meulengracht og Richel* (1937), *Hartmann, Perley og Barnett* (1938), *Brownlee* (1939), *Harris og Michel* (1939), *Vigness, Watson og Spink* (1940) og *Gross* (1946)).

For nogle år siden vakte en epidemi af cyanose opmærksomhed. Forskellige steder i København forekom af ukendt grund cyanose hos forskellige personer. Det viste sig, at disse personer alle havde indtaget Capacetyl-

tabletter, der indeholdt phenacetin fra en speciel fabrikation. Man fandt, at tabletterne indeholdt chloracetanilid som forurening. Tilfældene af cyanose er beskrevet af *Jacobsen* (1949), *Gad, Jacobsen, Madsen og Schmith* (1950) og *Hald* (1950 a, b). Man foreslog et renhedskrav på mindre end 0.15 pct. chloracetanilid i phenacetin. *Schmith og Madsen* (1950) udførte humane forsøg med tabletter indeholdende chloracetanilid og viste, at forurening med dette medførte methæmoglobinæmi.

Af sulfonamiderne kan sulfanilamid, prontosil, sulfatiazol og sulfapyridin give methæmoglobinæmi (*Lockwood, Coburn og Stokinger* (1938), *Campbell og Morgan* (1939), *Rimington* (1939), *Rimington og Hemmings* (1939), *Webb og Kniazuk* (1939), *Wendel, Wendel og Cox* (1939), *Carey og Wilson* (1940), *Fox* (1940) og *Smith* (1940)).

Methæmoglobinæmi ses undertiden ved industriel eller anden accidentel forgiftning med amino- og nitroforbindelser. Almindeligst er forgiftning med anilin (*Dittrich* (1892), *Young* (1926)), nitrobenzol, dinitro- og trinitrobenzol (*Dittrich* (1892), *Hindse-Nielsen* (1920), *Bjerre* (1932), *Oettingen* (1944), *Glahn og Schack-Schou* (1947) og *Bjardon* (1956)). Sådanne forgiftninger er ofte svære, undertiden dødelige. Svære methæmoglobinæmier er set hos børn, der har slugt farvestifter indeholdende anilinfarvestof (*Clark* (1947) og *Rieders og Brieger* (1953)).

Det synes, som om spædbørn er særlig modtagelige for påvirkning med methæmoglobindannende gifte. Hæmoglobin hos spædbørn afviger i sine egenskaber på forskellig måde fra hæmoglobin hos voksne, idet en del af det endnu forekommer som foetalt hæmoglobin. I 1926 gjorde *Bischoff* opmærksom på, at blod hos nyfødte indeholder et »foetalt hæmoglobin«, der adskiller sig fra hæmoglobin hos voksne. Ved at undersøge den hastighed, hvormed hæmoglobin denatureredes ved tilsætning af alkali, fandt han stor alkaliresistance i navlesnorsblod og i blod fra spædbørn. Hæmoglobin fra voksne var lidet alkaliresistent. I 11måneders alderen forsvandt det sidste alkaliresistente hæmoglobin fra børnenes blod. At det foetale hæmoglobin er særligt resistent overfor alkali, er siden bekræftet af andre, og denne egenskab anvendes nu ved den kvantitative bestemmelse af foetalt hæmoglobin. I 1934 udarbejdede *Brinkman, Wildschut og Wittermans* en fotoelektrisk metode til at bestemme alkaliresistent hæmoglobin i blodet. De fandt i blod fra nyfødte 80 pct. alkaliresistent hæmoglobin, hos voksne derimod intet. *Brinkman og Jonxis* (1935) fandt foetalt hæmoglobin indtil 7 måneders alderen.

I arbejder af *Barcroft og medarbejdere* (1935 og 1936) gjordes opmærksom på, at det foetale hæmoglobin har større affinitet til ilt end det maternelle hæmoglobin, således at det foetale hæmoglobins iltdissociationskurve er forskudt til venstre i forhold til normalt. Hos voksne forekommer

foetalt hæmoglobin normalt ikke, men skal kunne forekomme under patologiske forhold, som perniciøs anæmi, leucoser, cancer med knoglemetastaser og tuberkuløse knoglelidelser (*Chernoff* (1953 a, b) og *Kornerup og Faber* (1955)). Da foetalt hæmoglobin i særlig grad lader sig omdanne til methæmoglobin, har man måske deri forklaringen på, at spædbørn er særlig gode methæmoglobindannere. Kraftig cyanose som følge af methæmoglobinæmi kan således ses hos spædbørn, der har fået nitratholdigt vand i deres mælkeblandinger (*Comly* (1945), *Faucet og Miller* (1946), *Medowy, Guest og Victor* (1947), *Ewing og Mayan-White* (1951) og *Campbell* (1952)). I Iowa (*Comly* 1945) iagttoges adskillige tilfælde af methæmoglobinæmi hos spædbørn. En undersøgelse viste, at børnenes mælkeblandinger var fortyndet med særligt nitratholdigt vand. I et enkelt tilfælde fandtes 9.6 g methæmoglobin per 100 ml blod (*Faucet og Miller* 1946). Der påvistes indtil 600 mg nitrat per liter i drikkevandet.

En anden ejendommelig iagttagelse er methæmoglobinæmi hos spædbørn efter resorption af anilinfarvestof gennem huden. Der er beskrevet flere tilfælde af sådan methæmoglobinæmi forårsaget af mærkeblæk på bleer (*Rayner* (1886), *Neuland* (1921), *Weinberg* (1931), *Graubarth og medarbejdere* (1945) og *Howarth* (1951)).

Som nævnt tidligere i dette kapitel er cyanosen som regel det mest fremtrædende symptom ved chroniske forgiftninger med de omtalte stoffer. Ved svære acute methæmoglobinæmier kan symptomer forårsaget af anoxæmi i vævene dominere. Disse symptomer ses først ved højt methæmoglobinindhold i blodet. I regelen skal mere end 40 pct. af blodets hæmoglobin være omdannet til methæmoglobin, førend alarmerende symptomer indtræder. De symptomer, der under sådanne forhold kan optræde, er dyspnoe, angina pectoris, hovedpine, svimmelhed, døsighed, bevidstløshed og død.

Methæmoglobin kan som omtalt ikke afgive og optage ilt reversibelt, sådan som oxyhæmoglobin kan. Methæmoglobinæmi medfører derfor, at en del af blodets hæmoglobin inaktiveres og ikke mere kan bidrage til ilttransporten. Foruden at methæmoglobinæmi kan kompromittere iltforsyningen af vævene på denne måde, kan det også på anden måde hindre en sufficient iltning i vævene. Som vist af *Darling og Roughton* (1942), bevirker methæmoglobinæmi, at det resterende hæmoglobins iltdissociationskurve forskydes mod venstre i forhold til iltdissociationskurven i normalt blod. Dette medfører, at oxyhæmoglobin vanskeligt afgiver ilt i vævene. Ved et methæmoglobinindhold på mere end 40—50 pct. kan der som vist af *Clark, van Loon og Adams* (1943) på hunde komme et øget minutvolumen for at skaffe tilstrækkelig ilt til de perifere væv.

At vævenes iltforsyning kan nedsættes under methæmoglobinæmi, vistes af *Tepperman, Bodansky og Jandorf* (1946) ved at måle mælkesyreindhol-

det i blodet hos forsøgspersoner, der udførte et bestemt arbejde på cykelergometer. Fremkaldtes methæmoglobinæmi hos forsøgspersonerne, fandtes større mælkesyreindhold efter arbejdet.

Van Loon, Clark og Blair (1944) viste, at store doser acetanilid i hundeforsøg ved siden af methæmoglobinæmi kunne give anledning til hæmolyse.

Først ved meget svære methæmoglobinæmier bliver vævenes iltforsyning så ringe, at kompensation ved øget minutvolumen og anaerobt stofskifte ikke er tilstrækkeligt, og døden indtræder. *Vandenbelt og medarbejdere* (1944) fandt, at der hos hunde optrådte dyspnoe, ataxi og opkastning ved 60 pct. methæmoglobin, bevidstløshed ved 85 pct. og død, når 90—95 pct. af blodets hæmoglobin var omdannet til methæmoglobin. Lignende resultater fandt *Bodansky og Gutmann* (1947) og *Lester og Greenberg* (1944).

Selv om svære methæmoglobinæmier er sjældne hos mennesker, er der dog beskrevet en del tilfælde med alarmerende symptomer. Som angivet af *Finch* (1948) kan der forekomme dyspnoe og hovedpine hos mennesker ved 40—45 pct. methæmoglobin, svimmelhed og døsighed ved 60—65 pct. Dødelig mængde methæmoglobin hos mennesker antages at være 75—80 pct. Det er allerede nævnt, at dødelig methæmoglobinæmi er forekommet efter indtagelse af nitrater, anilin og nitrobenzol. Selv efter absorption af mærkeblæk fra bleer hos spædbørn er der forekommet dødsfald (*Graubarth og medarbejdere* 1945). Dødelig dosis af anilin varierer stærkt. Død kan indtræde efter indtagelse af 0.25 ml, men der kendes også tilfælde, hvor 25 ml er overlevet. Dødelig dosis af nitrobenzol er 15—20 dråber (*Osol og Farrar* 1947).

Af dette vil det forstås, at da der ved langt de fleste methæmoglobinæmier er tale om mindre end 40 pct. omdannelse af hæmoglobin til methæmoglobin, er ingen særlig behandling nødvendig ved disse. Udover cyanose er der ingen alarmerende symptomer, og methæmoglobinæmien vil svinde spontant i løbet af nogle timer, når det fremkaldende agens fjernes.

Ved svære acute forgiftninger, hvor endnu større mængder hæmoglobin er omdannet til methæmoglobin, er hurtig behandling derimod nødvendig.

Hvor behandling skønnes påkrævet, anvendes enten metylenblåt (*Hauschild* (1936), *Wendel* (1939) og *Bodansky og Gutmann* (1947)) eller ascorbinsyre (*Lian, Frumusan og Sassier* (1939)). Mest effektivt er metylenblåt, der kan gives intravenøst i 1 pct. vandig opløsning. Ialt bør gives 1—2 mg per kilo legemsvægt. Metylenblåt bevirker i løbet af få minutter en reduktion af methæmoglobin til hæmoglobin.

Til slut skal kort omtales methæmoglobinæmi af en tilsyneladende anden oprindelse. I 1902 beskrev *Stokvis* og samme år *Talma* en form for methæmoglobinæmi, som de kaldte »autotoxisk enterogen methæmoglobin-

æmi«. Tilstanden er senere beskrevet af andre (*van den Bergh* (1905 og 1906), *Raven* (1928), *Waterfield* (1928), *van Lier* (1933), *Henstell og Dameshek* (1936), *Giordano og Vigliani* (1937), *Traxler* (1943) og *Miller* (1944)). Enterogen cyanose optræder hos patienter, der lider af tarmforstyrrelser, diarrhoe eller obstipation. I de refererede tilfælde udviklede der sig cyanose af samme art som den medicamentelle cyanose. Ved siden af cyanosen fandtes hos de fleste af disse patienter anæmi. *Van den Bergh* påviste hos sådanne patienter nitritfremkaldende bakterier i tarmen og nitriter i blodet. Han antog derfor, at methæmoglobindannelsen skyldtes en abnorm dannelse og resorption af nitriter. Om det er berettiget at adskille denne form for cyanose fra den medicamentelle, er uafgjort. I hvert fald havde flere af disse patienter indtaget hovedpinepulvere (*Raven* (1928) og *Traxler* (1943)). Ved tarmforstyrrelser af den nævnte art er ved siden af methæmoglobin ofte også påvist sulfhæmoglobin.

Endelig er der beskrevet enkelte tilfælde af hæmolytisk anæmi ledsaget af methæmoglobinæmi (*Finch 1948*), hvor der ikke kunne påvises indtagelse af medicin eller intestinal sygdom. Nogen årsag til denne form for methæmoglobinæmi kendes ikke.

SULFHÆMOGLOBINÆMI

En anden årsag til cyanose på grund af et patologisk hæmoglobinderivat er sulfhæmoglobinæmi.

I 1863 viste *Hoppe-Seyler,* at der dannedes et brunlig-grønt pigment i en hæmoglobinopløsning, når han ledte svovlbrinte til den. Han antog, at det drejede sig om et ikke tidligere kendt hæmoglobinderivat, og indførte senere betegnelsen »schwefelmethæmoglobin« (1866). I 1890 indførte *Araki* den nu anvendte betegnelse sulfhæmoglobin.

Sulfhæmoglobinmolekylet antages at indeholde et svovlatom mere end hæmoglobinmolekylet (*Michel* (1938), *Nijveld* (1943)). *Nijveld* antog desuden, at sulfhæmoglobinmolekylet indeholder 2 brintatomer mindre end hæmoglobinmolekylet. Svovlatomet antages efter *Lemberg, Holden, Lockwood og Legge* (1942) at danne en bro mellem jernatomet i hæm og histidin i globindelen af molekylet. Sulfhæmoglobinmolekylet har en lukket porfyrinring (*Barkan og Walker* (1942), *Lemberg og medarbejdere* (1942) og *Nijveld* (1943)).

Opløsninger af sulfhæmoglobin er mørke, brunliggrønne. Ved fremstilling i laboratoriet dannes i regelen samtidig hæmoglobinnedbrydningsproduktet choleglobin (*Lemberg og medarbejdere* (1942)). Sulfhæmoglobinets øvrige fysisk-kemiske egenskaber vil blive beskrevet i kapitlet om kvantitativ sulfhæmoglobinbestemmelse.

Laboratorieforsøg har vist, at sulfhæmoglobindannelse principielt altid sker ved en reaktion mellem hæmoglobin og svovlbrinte, og at processen kan accellereres under forskellige forhold. Tilstedeværelse af ilt anses for at være nødvendig, for at processen kan ske (*Hoppe-Seyler* (1863), *Haurowitz* (1926), *Keilin* (1933), *Michel* (1938), *Barkan og Schales* (1938 a) og *Jung* (1940)). I 1907 viste *Clarke og Hurtley,* at sulfhæmoglobindannelsen accellereres stærkt ved tilstedeværelse af reducerende stoffer. De anvendte i deres forsøg phenylhydrazin.

Michel (1938) tænkte sig, at sulfhæmoglobindannelsen sker ved tilstedeværelse af brintoverilte, der dannes af oxyhæmoglobin og svovlbrinte, hvorved der desuden dannes reduceret hæmoglobin og svovl. Af reduceret hæmoglobin, brintoverilte og svovlbrinte tænkte han sig, at der derefter dannes sulfhæmoglobin og vand.

Lemberg og medarbejdere (1942) antog, at der under sulfhæmoglobindannelsen opstår et labilt intermediærprodukt af hæmoglobin og brintoverilte, som sammen med svovlbrinte danner sulfhæmoglobin og vand. Brintoveriltedannelsen accellereres af reducerende stoffer som phenylhydrazin.

Dannelsen af sulfhæmoglobin i organismen antages også at ske ved en proces mellem hæmoglobin og svovlbrinte (*van den Bergh* 1905). Svovlbrinte dannes ved bakterielle processer i tarmen og vil altid være til stede der. Fra tarmen kan svovlbrinte resorberes og under særlige betingelser sammen med hæmoglobin danne sulfhæmoglobin.

Wallis (1913) mente, at tilstedeværelse af nitrit var nødvendig for, at sulfhæmoglobindannelse kunne ske i større mål i den menneskelige organisme. Det lykkedes ham hos 3 patienter med sulfhæmoglobinæmi at påvise nitritdannende bakterier i mundhulen og nitrit i patienternes fæces. Hans teori bekræftedes af *Garrod* (1925), men kunne ikke bekræftes af *Long og Spriggs* (1917), der ikke kunne påvise nitritdannende bakterier hos deres patient.

Senere blev man klar over, at sulfhæmoglobindannelsen in vivo kan katalyseres af methæmoglobindannere som phenacetin (*Snapper* 1922), acetanilid (*Todd* 1926) og sulfanilamid (*Colebrook* 1936). Allerede *Snapper* (1922) var klar over, at processen yderligere fremmes ved samtidig indtagelse af svovl, antagelig ved at øge svovlbrintedannelsen i tarmen. 1922 (a, b) viste *van den Bergh og Engelkes,* at sulfhæmoglobinæmi kan opstå efter indtagelse af svovl eller magniumsulfat. 1931 viste *van den Bergh og Revers,* at sulfhæmoglobinæmien efter magniumsulfat øges ved samtidig indtagelse af pyridin.

Når der kan opstå sulfhæmoglobinæmi efter indtagelse af magniumsulfat, antages det at bero på en øget svovlbrintedannelse i tarmen. Magniumsulfat bevirker, at der kommer en øget vædskemængde i tarmen, og begunstiger

derved de svovlbrintedannende bakteriers arbejde (*Archer og Discombe* 1937).

Sulfhæmoglobindannelse i den menneskelige organisme kan således opstå:

1. spontant hos patienter, der ikke har indtaget medikamenter,
2. efter indtagelse af svovl eller sulfat,
3. efter indtagelse af methæmoglobindannende stoffer som aromatiske amino- og nitroforbindelser,
4. efter samtidig indtagelse af svovl eller sulfat og en methæmoglobindanner.

Campbell og Morgan (1939) antog, at der ved sulfhæmoglobindannelsen in vivo dannes methæmoglobin som mellemled, hvorefter methæmoglobin omdannes til sulfhæmoglobin af svovlbrinte resorberet fra tarmen. De mente derved at have en forklaring på, at methæmoglobin og sulfhæmoglobin kan forekomme samtidigt hos samme patient.

I almindelighed regner man dog ikke med, at det er nødvendigt, at methæmoglobin findes som mellemled ved sulfhæmoglobindannelsen, men at processen foregår på samme måde som angivet af *Lemberg og medarbejdere* (1942) in vitro med en labil forbindelse af hæmoglobin og brintoverilte som mellemled.

En række forsøg er i tidens løb udført for at klarlægge, under hvilke forhold sulfhæmoglobindannelsen foregår in vivo. De fleste af disse forsøg er dyreforsøg. Der findes kun beskrevet få humane forsøg på at fremkalde sulfhæmoglobinæmi experimentelt.

Snapper (1922) viste i hundeforsøg, at indgift af phenacetin og svovl gav sulfhæmoglobindannelse. *Harrop og Waterfield* (1930) viste ligeledes i hundeforsøg, at indgift af acetanilid eller phenacetin alene gav methæmoglobinæmi, medens samtidig indgift af svovl gav sulfhæmoglobinæmi.

Webb og Kniazuk (1939) og *Smith* (1940) fremkaldte dels met- og dels sulfhæmoglobinæmi på rotter ved at fodre dem med store mængder sulfanilamid.

Richardson (1941) viste, at samtidig indgift af sulfanilamid og svovl til kyllinger bevirkede sulfhæmoglobindannelse.

Specht og Schirm (1942) fremkaldte sulfhæmoglobinæmi hos marsvin ved at lade dyrene opholde sig i en atmosfære af svovlbrinte.

Dod, Bierman og Shimkin (1951) fremkaldte sulfhæmoglobinæmi hos kaniner og mus ved indgift af paraaminopropiofenol.

I humane forsøg dannedes sulfhæmoglobin af *Snapper* (1925) ved samtidig indgift af phenacetin og svovl, af *Campbell og Morgan* (1939) ved samtidig indgift af sulfanilamid og svovl. Også *Archer og Discombe* (1937) kunne fremkalde sulfhæmoglobinæmi hos en forsøgsperson ved samtidig

indgift af sulfanilamid og svovl. De nævnte forfattere rådede ikke over en teknik til kvantitativ sulfhæmoglobinbestemmelse. De har derfor ikke kunnet angive, hvor meget sulfhæmoglobin der dannedes i deres forsøg, men kun at forsøgspersonerne blev typisk cyanotiske, og at spektrometrisk undersøgelse afslørede sulfhæmoglobinets absorptionsbånd ved 620 mμ.

Omdannelse af hæmoglobin til sulfhæmoglobin er en irreversibel proces. Sulfhæmoglobin kan ikke som methæmoglobin af organismen omdannes til normalt hæmoglobin. Sulfhæmoglobin findes udelukkende intracellulært og bliver i organismen, så længe de røde blodlegemer lever (*Jope* 1946). *Jope* mente ikke, at sulfhæmoglobin beskadiger de røde blodlegemer, og anså varigheden af sulfhæmoglobinæmiens tilstedeværelse for identisk med blodlegemernes normale overlevningstid. Han fandt denne til 120 dage.

Dod og medarbejdere (1951) fandt, at experimentelt fremkaldt sulfhæmoglobinæmi hos kaniner og mus varede henholdsvis 43 og 19.2 dage. Disse varigheder svarede til de røde blodlegemers normale overlevningstid hos kaniner og mus bestemt med radioaktivt jern. Hos 3 kaniner fandtes varigheden af sulfhæmoglobinæmien kun til henholdsvis 9, 18 og 26 dage. Dette toges, som det senere nærmere skal beskrives, som udtryk for, at de sulfhæmoglobinholdige røde blodlegemer hos disse 3 kaniner havde en kortere overlevningstid end normalt. De 3 kaniner udviklede samtidig med sulfhæmoglobinæmien en anæmi.

Sulfhæmoglobin findes ikke i den normale organisme, men kan som nævnt findes under patologiske forhold.

Det første kliniske tilfælde af sulfhæmoglobinæmi blev beskrevet 1905 af *van den Bergh*. En 9årig dreng med congenit analstrictur og vesicorectal fistel havde været cyanotisk i 2 år. Hans blod var abnormt mørkt, og en spektroskopisk undersøgelse viste, at det indeholdt sulfhæmoglobin. Helbredelse af stricturen og lukning af fistlen bevirkede, at sulfhæmoglobinæmien svandt. *Van den Bergh* antog, at der skete en særlig rigelig dannelse af svovlbrinte i den syge tarm, og at denne svovlbrinte var ansvarlig for sulfhæmoglobindannelsen. Han kaldte sygdomsbilledet for enterogen sulfhæmoglobinæmi.

Siden er beskrevet en snes tilfælde af sulfhæmoglobinæmi, hvor man anså cyanosen for at være af enterogen oprindelse (*van den Bergh* (1906), *Russel* (1907), *West og Clarke* (1907), *Wynter* (1908), *Clarke og Curtis* (1910), *Davis* (1912), *Wallis* (1913), *Long og Spriggs* (1917), *Jamison* (1918), *Mason og Conroy* (1921), *Ivens og van Vollenhoven* (1925), *Garrod* (1925), *Campbell og Farquharson* (1927), *Waterfield* (1928), *Henstell og Dameshek* (1936) og *Barfoed* (1945)). Fælles for disse patienter var tarmforstyrrelser. De fleste led af chronisk obstipation. Flertallet af patienterne var neurotiske kvinder, flere klagede over hovedpine.

Om det er berettiget at opstille den enterogene sulfhæmoglobinæmi som et selvstændigt begreb, er tvivlsomt. De fleste tilfælde er beskrevet, før man var klar over, at der fandtes en medicamentel sulfhæmoglobinæmi. I den nyere litteratur findes ingen tilfælde af enterogen sulfhæmoglobinæmi beskrevet. I enkelte af de som enterogen sulfhæmoglobinæmi beskrevne tilfælde nævnes det, at patienterne havde indtaget phenacetin på grund af hovedpine (*Ivens og van Vollenhoven* 1925); derimod er der ikke nævnt sulfatindtagelse i de refererede tilfælde. De fleste af disse stammer fra en tid, hvor sulfater var blandt de mest anvendte afføringsmidler. Efter 1910 aftog forbruget af sulfater lidt efter lidt til fordel for andre afføringsmidler. Man kan således formode, at en del af de nævnte patienter har indtaget sulfater, da de fleste led af chronisk obstipation. Med et almindeligt kendskab til patienter af den nævnte art, individer med neurotiske træk, hovedpine og obstipation, må det på forhånd forekomme sandsynligt, at de har indtaget medikamenter for at lette deres symptomer. Hvis dette er tilfældet, er i hvert fald en del af de enterogene sulfhæmoglobinæmier snarere af medicamentel oprindelse.

Først i 1922 blev man klar over, at sulfhæmoglobinæmi kan opstå ved medicamentel forgiftning. *Snapper* (1922) beskrev cyanose hos 2 patienter, som gennem en årrække havde indtaget phenacetinpulvere dagligt på grund af hovedpine. En undersøgelse af blodet viste, at det indeholdt sulfhæmoglobin. Siden er der beskrevet talrige tilfælde af cyanose på grund af sulfhæmoglobindannelse som følge af overdrevent forbrug af phenacetin gennem lang tid (*Snapper* (1925), *van Lier* (1933), *Giordano og Vigliani* (1937), *Coxon og Crawford* (1940), *Rivier og Gonella* (1946), *Sundin* (1951), *Maier, Bühlmann og Hotz* (1952) og *Begg* (1955)).

Man blev hurtigt klar over, at sulfhæmoglobinæmi kan opstå efter indtagelse af andre medikamenter, især aromatiske aminoforbindelser.

Mange tilfælde er beskrevet efter overdrevent brug af acetanilid (*Todd* (1926), *Harrop og Waterfield* (1930), *Healey* (1932), *Gley* (1937), *Lazarus* (1945) og *Reynolds og Ware* (1952)).

Også cyanose efter indtagelse af sulfonamider, især sulfanilamid og prontosil, kan skyldes tilstedeværelse af sulfhæmoglobin i blodet (*Colebrook* (1936), *Daniels* (1937), *Discombe* (1937), *Paton og Eaton* (1937), *Petsch* (1939), *Campbell og Morgan* (1939) og *Fichter* (1954)).

1946 beskrev *Jope* sulfhæmoglobinæmi hos 7 arbejdere efter trinitrobenzolforgiftning.

1931 påviste *van den Bergh og Revers* sulfhæmoglobin i blodet hos patienter, der havde indtaget magniumsulfat. De påviste en særlig stærk cyanose hos patienter, der havde indtaget pyridin og magniumsulfat samtidig. Senere har andre fundet, at magniumsulfat kan give sulfhæmoglobin-

æmi, dels alene men navnlig ved samtidig indtagelse af et af de ovenfor nævnte medikamenter (*Paton og Eaton* (1937), *Daniels* (1937) og *Begg* (1955)).

Det største kliniske materiale af sulfhæmoglobinæmier stammer fra Mayoklinikken, hvor *Brandenburg og Smith* (1951) gennem 10 år samlede 62 tilfælde. De medikamenter, de fandt som årsag til sulfhæmoglobindannelse, var magniumsulfat, acetanilid, phenacetin og sulfanilamid. De fleste af deres patienter led af chronisk obstipation. At denne lidelse disponerer til sulfhæmoglobindannelse, er også fremhævet af tidligere forfattere, idet næsten alle patienter med sværere sulfhæmoglobinæmi havde chronisk obstipation.

Todd (1926) angav, at leverbeskadigelse disponerer til sulfhæmoglobindannelse. Han beskrev sulfhæmoglobinæmi efter indtagelse af hovedpinetabletter hos en patient med chronisk hepatitis. Experimentelt viste han, at indgift af svovlholdigt diæt til kaniner med experimentelt fremkaldt leverbeskadigelse bevirkede sulfhæmoglobinæmi, medens indgift af samme diæt til normale kaniner ikke havde denne virkning. Om leverlidelse også hos mennesker øger muligheden for sulfhæmoglobindannelse, er ikke bevist. I denne forbindelse må nævnes, at man især i ældre tid behandlede hepatitis med Carlsbadersalt, som i sig selv kan give sulfhæmoglobinæmi. På basis af en enkelt ældre klinisk iagttagelse er det derfor svært at afgøre, om der virkelig lettere sker en sulfhæmoglobindannelse hos patienter med leversygdom. I den nyere litteratur findes dette ikke beskrevet.

I blodet hos patienter med medicamentel cyanose efter indtagelse af sulfanilamid, acetanilid og phenacetin kan undertiden påvises methæmoglobin og sulfhæmoglobin samtidig (*Gley* (1937) og *Campbell og Morgan* (1939)).

Det i laboratorieforsøg almindeligt forekommende choleglobin findes almindeligvis ikke i kliniske tilfælde af sulfhæmoglobinæmi, men er dog beskrevet i et enkelt tilfælde hos en patient, der havde 21 pct. sulfhæmoglobin og 2.5 pct. choleglobin i blodet efter sulfanilamidindtagelse (*Lemberg og medarbejdere 1942*).

Ganske enkelte tilfælde af sulfhæmoglobinæmi, som tilsyneladende ikke falder ind i de nævnte grupper, er beskrevet. 1942 beskrev *Franklin* et tilfælde af sulfhæmoglobinæmi hos en nyfødt med anæmia neonatorum. Cyanosen udviklede sig, da barnet var 7 dage gammelt, og svandt efter blodtransfusion. Sulfhæmoglobinæmi kan undertiden findes i blodet hos patienter med sepsis forårsaget af *Welsh-Frenkels* bacil (*Bingold* 1940). *Evans og medarbejdere* beskrev 1950 2 tilfælde af hæmolytisk anæmi i tilslutning til met- og sulfhæmoglobinæmi efter indtagelse af hovedpinepulvere indeholdende phenacetin. I blodet fra begge patienter påvistes

både met- og sulfhæmoglobin. I begge tilfælde var der størst methæmoglobindannelse. Patienterne havde hæmolytisk anæmi med bilirubinæmi og øget antal reticulocyter. Man antog, at den hæmolytiske proces forårsagedes af de samme stoffer, som havde fremkaldt met- og sulfhæmoglobinæmien.

Da man ikke har haft nogen tilfredsstillende teknik til at bestemme mængden af sulfhæmoglobin i blodet, er der i de fleste af de refererede tilfælde ikke angivet noget mål for sulfhæmoglobinæmiens grad. Det antages dog, at den i almindelighed ikke overskrider 20 pct. af totalhæmoglobin i kliniske tilfælde (*Lemberg og medarbejdere* 1942), og der kendes ingen dødeligt forløbende tilfælde af sulfhæmoglobinæmi hos mennesker. Bortset fra cyanose, træthed, svimmelhed og anæmi kendes ingen alarmerende symptomer ved sulfhæmoglobinæmi.

Tilstedeværelse af sulfhæmoglobin i blodet nedsætter blodets ilttransporterende evne på grund af sulfhæmoglobinets manglende evne til at optage og afgive ilt, men da sulfhæmoglobinæmien sjældent når sværere grader, har dette næppe større betydning for vævenes iltforsyning.

1952 undersøgte *Maier, Bühlmann og Hotz* iltmætningen i arterieblodet hos patienter med sulfhæmoglobinæmi og gjorde den interessante iagttagelse, at iltmætningen var nedsat, således at blodets ilttransporterende evne yderligere var forringet af denne grund.

I almindelighed kan man dog sige, at sulfhæmoglobinæmi er en lidet farlig tilstand, der ikke kræver anden behandling end ophør med indtagelse af det sulfhæmoglobin-fremkaldende medikament. Er cyanosen betydelig, vil der dog gå 3—4 måneder, før cyanosen forsvinder.

2. kapitel.

KVANTITATIV HÆMOGLOBINBESTEMMELSE

Skal man arbejde med kvantitative met- og sulfhæmoglobinanalyser, må man først sikre sig en pålidelig teknik til kvantitativ hæmoglobinbestemmelse.

Talrige metoder til kvantitativ hæmoglobinbestemmelse kendes. For de flestes vedkommende gælder, at de vel er anvendelige til kliniske formål, men på grund af de store fejl, de er behæftede med, er aldeles uanvendelige til analytisk arbejde. Disse metoder til klinisk hæmoglobinbestemmelse skal ikke nærmere omtales.

Som den nøjagtigste metode til bestemmelse af hæmoglobin betragtes almindeligvis bestemmelse af blodets iltkapacitet, idet denne lader sig bestemme med stor nøjagtighed i de gængse luftanalyseapparater. Denne metode hviler på kendskabet til, at 1 g hæmoglobin binder 1.34 ml ilt. Dette vistes af *Hüfner* (1894).

Der har været nogen usikkerhed med hensyn til størrelsen af Hüfnerfaktoren. Således fandt *Bernhart og Skeggs* (1943), at 1 g hæmoglobin kunne binde 1.36 ml ilt. Spørgsmålet diskuteredes af *Sunderman og medarbejdere* (1953), der konkluderede, at størrelsen af anden decimal i faktoren ikke er sikkert fastlagt, men de anså dog 1.34 for mest korrekt.

En anden rationel metode til hæmoglobinbestemmelse er bestemmelse af jernindholdet i hæmoglobinet, idet et hæmoglobinmolekyle indeholder eet jernatom. Som vist af *Hüfner* (1894) indeholder hæmoglobin 0.335 pct. jern. Jernanalyser er ligesom iltkapacitetsbestemmelser nøjagtige, men tidsrøvende.

Det var derfor en stor lettelse, da man indførte spektrofotometriske metoder til kvantitativ hæmoglobinbestemmelse. Sådanne bestemmelser lader sig udføre hurtigt og med stor nøjagtighed.

Der findes en række gasometriske og spektrofotometriske metoder til hæmoglobinbestemmelse, som er særdeles nøjagtige og anvendelige til analytisk arbejde. Her skal kun gøres rede for de analysemetoder, der er anvendt i dette arbejde. Det drejer sig om:

1) gasometrisk iltkapacitetsbestemmelse.
2) gasometrisk kuliltekapacitetsbestemmelse.
3) spektrofotometrisk hæmoglobinbestemmelse.

Den gasometriske iltkapacitetsbestemmelse er udarbejdet af *van Slyke og Neill* (1924) og findes angivet i *Peters og van Slyke:* Quantitative clinical chemistry. (1932).

Til analysen bruges *van Slykes* apparat til luftanalyser.

De nødvendige reagenser er:

a) saponin-kaliumferricyanidopløsning. 6 g kaliumferricyanid og 3 g saponin opløses i 1 l destilleret vand.
b) 1 normal natriumhydroxyd.
c) 20 pct. natriumditionitopløsning. 10 g natriumditionit og 1 g natriumanthrakinonbetasulfonat opløses i 50 ml 1 normal kaliumhydroxyd. Opløsningen fremstilles frisk hver dag. Reagenserne b) og c) gøres luftfrie ved at extrahere luften i van Slykeapparatet, hvorefter de opbevares under paraffinolie.

Analysen udføres på følgende måde: 10 ml saponinkaliumferricyanidopløsning afmåles i apparatets kop. Opløsningen trækkes ned i kammeret, der lukkes med kviksølv og niveauet sænkes til 50 ml. Derefter rystes i 3 minutter, og niveaubeholderen hæves atter, hvorved overskydende luft uddrives af apparatet. 6 ml af saponinkaliumferricyanidopløsningen drives op i koppen. Dernæst indføres 2 ml blod i kammeret ved hjælp af en Oswaldpipette, 1 ml af opløsningen i koppen trækkes ind i kammeret, og der lukkes med kviksølv. Niveauet sænkes til 50 ml, og der rystes i 3 minutter, hvorved oxyhæmoglobinets ilt afgives, og der dannes methæmoglobin. Overfladen hæves til ca. 5 ml. 1 ml natriumhydroxyd trækkes ind i kammeret til absorption af kuldioxyd, der indstilles nøjagtigt på 2 ml mærket, og trykket p 1 aflæses. Niveauet sænkes atter nogle få ml, og der indføres 1.5 ml natriumditionitopløsning dråbevis til absorption af ilt. Der indstilles atter på 2 ml mærket, og trykket p 2 aflæses. Samme analyse foretages med vand til bestemmelse af blindværdien. Iltkapaciteten i volumenprocent er (p 1 $\div$ p 2) $\times$ faktor $\div$ blindværdi. Faktoren, der er afhængig af temperaturen, er angivet af *Peters og van Slyke.*

Den gasometriske teknik til bestemmelse af kuliltekapaciteten er oprindelig angivet af *Nicloux og Fontès* (1924) og senere forbedret af *van Slyke og Hiller* (1929). Metoden findes detailleret beskrevet i *Peters og van Slyke:* Quantitative clinical chemistry (1932). *Rappaport og Köck-Molnar* (1934) anbefalede at anvende en koncentreret urinstofopløsning til fortynding af blodet i stedet for vand, som oprindelig angivet. Herved undgås protein-

udfældninger på kammerets vægge. Metoden anvendtes med denne modifikation af *Ammundsen* (1939). *Ammundsen* fandt som tidligere nævnt ikke-kuliltebindende hæmoglobin i blod fra normale personer. Hun angav, at indtil 14 pct. hæmoglobin hos normale kunne forekomme som inaktiv hæmoglobin. 1942 viste *Kallner,* at blod fra normale næppe indeholder inaktiv hæmoglobin, og påviste, at når *Ammundsen* fandt så høje værdier for inaktiv hæmoglobin, skyldtes det antagelig, at hun anvendte for lavt kuliltetryk, hvorved hæmoglobinet ikke fuldtud omdannedes til kulilte-hæmoglobin. *Kallner* anbefalede at anvende 10 ml kulilte i stedet for 2 ml, som anvendt af *Ammundsen.* Ved at anvende denne modifikation fandt han intet inaktivt hæmoglobin i blod fra normale.

Med de nævnte modifikationer udføres analysen på følgende måde:

Reagenserne, der skal anvendes, er:

a) mættet urinstofopløsning.
b) 32 pct. kaliumferricyanidopløsning.
c) koncentreret mælkesyre.
(d) b) og c) blandes umiddelbart før brugen i forholdet 9 dele koncentreret mælkesyre til 100 dele kaliumferricyanidopløsning.)
e) 5 normal natriumhydroxyd.
f) natriumditionitopløsning. 1 g natriumditionit opløses i 10 ml destilleret vand. Der tilsættes 3 dråber koncentreret ammoniakvand, og opløsningen dækkes med paraffinolie. Frisk opløsning hver dag.

Til analysen bruges ligesom til iltkapacitetsbestemmelsen *van Slykes* luftanalyseapparat.

Ved denne metode får man bestemt det såkaldte »aktive hæmoglobin«, hvorved man forstår hæmoglobin, der reversibelt kan optage og afgive ilt. Ved at reducere blodet med natriumditionit inden bestemmelsen er det muligt at medbestemme eventuelt tilstedeværende methæmoglobin. Metoden lader sig således anvende til bestemmelse af methæmoglobin, der vil være lig totalhæmoglobin ÷ aktivt hæmoglobin.

Bestemmelsen af aktivt hæmoglobin foregår på følgende måde: I apparatets kop hældes 4.7 ml urinstofopløsning. Med Oswaldpipette afmåles 2 ml blod i kammeret, hvorefter urinstofopløsningen trækkes ned i kammeret. Derefter afmåles 10 ml kulilte i kammeret, der lukkes med kviksølv, overfladen sænkes til 50 ml mærket, og der rystes i 3 minutter, hvorved kulilte bindes til hæmoglobinet. Overskydende kulilte og luft uddrives. Overfladen sænkes nogle ml, og der lukkes 0.3 ml kaliumferricyanid-mælkesyreopløsning ind i kammeret. Det lukkes atter med kviksølv, og overfladen sænkes til 50 ml mærket, hvorefter der rystes i 3 minutter. Herved frigøres kulilten atter, og al hæmoglobin omdannes til methæmoglobin.

Man lader derefter vædsken stige op til ca. 8 ml. I koppen fyldes 1 ml natriumhydroxyd, og der lukkes nøjagtigt ½ ml ind i kammeret til absorption af kuldioxyd. Der indstilles nøjagtigt på 2 ml mærket, og trykket p 1 aflæses. Til slut uddrives al luft. Der lukkes med kviksølv og indstilles atter på 2 ml mærket, og trykket p 2 aflæses. Samme forsøg udføres med vand til bestemmelse af blindværdien. Kuliltekapaciteten for aktivt hæmoglobin angivet i volumenprocent er (p 1 ÷ p 2) × faktor ÷ blindværdi. Faktoren findes i *van Slykes* tabel under hensyntagen til temperaturen.

Bestemmelsen af totalhæmoglobin foregår på lignende måde. I kammeret fyldes 4.3 ml urinstofopløsning. 2 ml blod afmåles i kammeret, som foran beskrevet. Derefter ledes 0.4 ml natriumditionitopløsning i kammeret til reduktion af aktivt og eventuelt tilstedeværende inaktivt hæmoglobin. Resten af analysen foregår som ved bestemmelsen af aktivt hæmoglobin. Beregningen af totalhæmoglobinets kuliltekapacitet foregår ligeledes som ved aktivt hæmoglobin. Teoretisk skal bestemmelserne af aktivt og totalt hæmoglobin give samme resultat hos normale. Undertiden findes en forskel, som man har betegnet som inaktivt hæmoglobin. Inaktivt hæmoglobin vil i regelen være methæmoglobin, hvorfor metoden som nævnt kan anvendes til methæmoglobinbestemmelse.

Conant, Scott og Douglas (1928) anbefalede ved gasometriske blodanalyser titanotartrat til reduktion af hæmoglobin i stedet for natriumditionit, idet de hævdede, at oxydationsprodukter af natriumditionit kan danne en inkontrollabel mængde methæmoglobin af oxyhæmoglobin. Metoderne udført som beskrevet har imidlertid, som det vil fremgå af det følgende, givet korrekte og reproducerbare resultater.

Den spektrofotometriske hæmoglobinbestemmelse er udført med en teknik, der er angivet af *Hunter* (1951). På basis af spektrofotometriske målinger af oxyhæmoglobinopløsninger, hvis iltkapacitet i forvejen var bestemt gasometrisk, optegnede han en kurve over transmissionens afhængighed af hæmoglobinkoncentrationen i opløsningerne. Målingerne foretoges ved bølgelængden 575 mμ på blod, der fortyndedes 1/200 med 0.1 pct. natriumkarbonatopløsning. Ved anvendelse af semilogaritmisk papir blev hæmoglobinkoncentrationens afhængighed af transmissionen retliniet.

En lignende kurve er angivet af *Hunter* for reduceret hæmoglobin, hvor målingerne blev foretaget ved 555 mμ på blod, der fortyndedes 1/200 med destilleret vand. Ved hjælp af disse kurver kan man, efter at have bestemt transmissionen af blodprøver fortyndet 1/200 direkte aflæse hæmoglobinets iltkapacitet i volumenprocent.

Egne undersøgelser: For at undersøge anvendeligheden af *Hunters* teknik til hæmoglobinbestemmelse udførtes forsøg dels med oxyhæmoglobin, dels

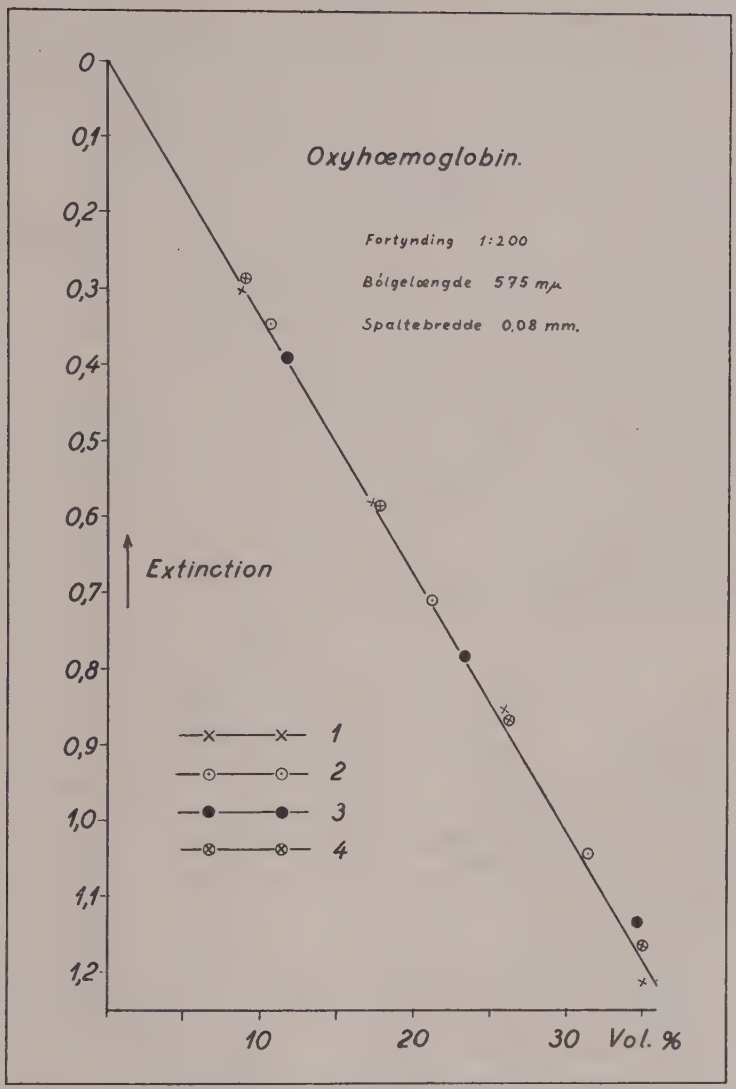
		Fortynding Iltkapacitet vol. pct.	1/400	2/400	3/400	4/400
Oxyhæmoglobin	1	17,3	0,302	0,583	0,854	1,237
	2	21,1	0,346	0,706	1,042	1,377
	3	23,3	0,390	0,783	1,131	1,509
	4	17,5	0,287	0,582	0,857	1,167
Reduceret hæmoglobin	5	17,4	0,242	0,480	0,725	0,996
	6	18,6	0,275	0,540	0,800	1,05
	7	18,0	0,258	0,515	0,780	1,00
	8	19,1	0,274	0,560	0,830	1,06

Tabel 1. Extinktioner af fortyndinger af oxyhæmoglobin ved 575 mμ og reduceret hæmoglobin ved 555 mμ. Prøvernes iltkapacitet er fundet ved gasometrisk måling.

med reduceret hæmoglobin. De spektrofotometriske målinger i dette arbejde er udført på Beckman spektrofotometer, model DU.

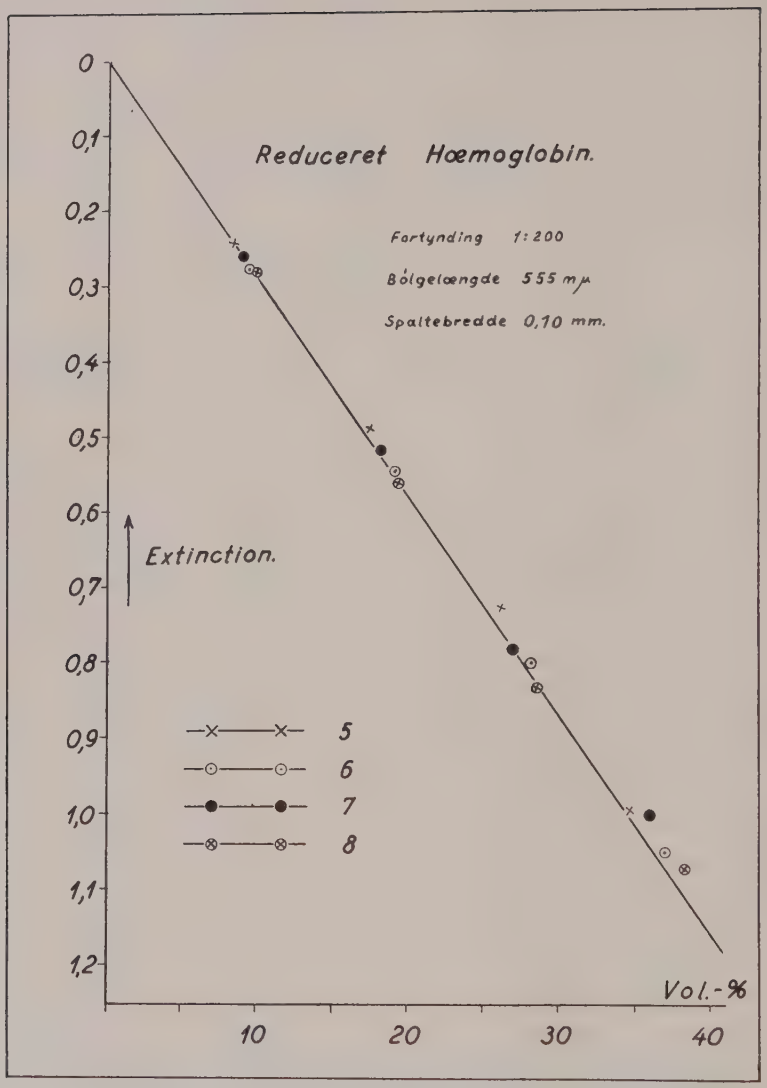
1) Oxyhæmoglobin: På 4 blodprøver fra sunde individer foretoges iltkapacitetsbestemmelse med den foran beskrevne gasometriske teknik. Til undersøgelsen anvendtes heparinblod. Prøverne fortyndedes derefter i forholdene 1/400, 2/400, 3/400 og 4/400 med 0.1 pct. natriumkarbonatopløsning, og extinktionerne aflæstes på spektrofotometret ved 575 mμ, spaltebredde 0.08 mm, Wolframlampe og rødfølsom fotocelle. Disse forsøg ligesom alle senere forsøg i dette arbejde er udført som dobbeltforsøg. I tabel 1 ses resultatet af målingerne. Extinktionernes afhængighed af iltkapaciteten er angivet grafisk i figur 1. Iltkapaciteterne af de enkelte fortyndinger er multipliceret med 200 og angivet i volumenprocent afsat på abscissen. De aflæste extinktioner er afsat på ordinaten. Som det ses på kurven, falder punkterne på en ret linie, der går gennem punktet, der svarer til extinktionen 0 og iltkapaciteten 0. Undtagen er punkterne for de højeste koncentrationer, hvor extinktionerne er høje og målingerne på spektrofotometret mere usikre. For iltkapaciteter indtil 25 volumenprocent hæmoglobin giver metoden fuldt pålidelige resultater. Den fundne kurve er identisk med den kurve, *Hunter* angav. Ved hjælp af denne kurve kan man måle iltkapaciteter i blodprøver, der kun indeholder oxyhæmoglobin. Blodprøven fortyndes 1/200 med 0.1 pct. natriumkarbonatopløsning, hvorefter extinktionen aflæses ved 575 mμ, og iltkapaciteten findes i volumenprocent på kurven.

2) Reduceret hæmoglobin: Et lignende forsøg udførtes med reduceret hæmoglobin. Iltkapaciteten bestemtes gasometrisk på 4 blodprøver fra normale personer. Fortyndingerne fremstilledes ved at fortynde blodet i stødpudeopløsning pH 7.0 1/150 molær. Hæmoglobinet reduceredes ved at tilsætte en dråbe natriumditionitopløsning. Natriumditionitopløsningen bestod



Figur 1. Extinktionens afhængighed af iltkapaciteten for oxyhæmoglobin.

af 1 g natriumditionit opløst i 10 ml destilleret vand tilsat 3 dråber koncentreret ammoniakvand. Målingerne skete ved 555 mμ, spaltebredde 0.08 mm og rødfølsom fotocelle. Resultatet af målingerne ses i de 4 nederste rækker i tabel 1. Figur 2 viser extinktionernes afhængighed af prøvernes iltkapacitet. Denne kurve er også en ret linie, der går gennem punktet, der svarer til iltkapaciteten o og extinktionen o. Kurven svarer ganske til *Hunters* kurve for reduceret hæmoglobin. Ved hjælp af kurven kan man



Figur 2. Extinktionens afhængighed af iltkapaciteten for reduceret hæmoglobin.

bestemme iltkapaciteten i blodprøver, der indeholder oxyhæmoglobin, reduceret hæmoglobin, methæmoglobin eller blandinger af disse. Blodprøven fortyndes 1/200 i 1/150 molær stødpude pH 7.0, hvorefter extinktionen aflæses ved 555 mμ, og iltkapaciteten findes i volumenprocent på kurven.

Det er nødvendigt at anvende metoden med reduceret hæmoglobin til bestemmelse af totalkapaciteten for en blodprøve, der indeholder både hæmoglobin og methæmoglobin. Denne metode vil give et korrekt resultat,

da methæmoglobin lader sig fuldstændigt omdanne til reduceret hæmoglobin ved ditionittilsætning.

Ved at anvende metoden med oxyhæmoglobin til bestemmelse af totalkapaciteten i prøver af oxyhæmoglobin og methæmoglobin vil man få et fejlagtigt resultat på grund af methæmoglobinets lave absorption ved 575 mμ. For eksempel vil en hæmoglobinopløsning, hvis totalkapacitet er 20 volumenprocent fejlagtigt blive bestemt til 18.5 volumenprocent, hvis den indeholder 10 pct. methæmoglobin. At fejlen er denne, kan beregnes, når man kender extinktionerne for oxyhæmoglobin og methæmoglobin ved 575 mμ. Disse er efter *Hunter* for 0.1 volumenprocent henholdsvis 0.67 og 0.16. Er der sulfhæmoglobin i blodet, er begge metoder uanvendelige til totalkapacitetsbestemmelse, idet sulfhæmoglobin har en ringe absorption sammenlignet med oxyhæmoglobin og reduceret hæmoglobin ved de anvendte bølgelængder og derfor vil give anledning til fejlbestemmelse af samme størrelsesorden som methæmoglobintilblanding til oxyhæmoglobin.

For yderligere at undersøge overensstemmelsen mellem de beskrevne metoder til bestemmelse af hæmoglobin udførtes følgende forsøg: På heparinblod fra sunde personer udførtes samtidig hæmoglobinbestemmelse ved

1) gasometrisk iltkapacitetsbestemmelse.
2) gasometrisk kuliltekapacitetsmåling, dels bestemmelse som aktivt hæmoglobin, dels som totalhæmoglobin.
3) spektrofotometrisk bestemmelse som beskrevet for oxyhæmoglobin.
4) endelig foretoges hæmoglobinbestemmelse på hæmotestapparat.

Hæmotestapparatet har siden 1946 været anvendt til bestemmelse af hæmoglobinkoncentration i klinikken. Dette apparat måler extinktionen af hæmoglobinopløsningen med 575 mμ på en fotocelle. Apparatets skala er inddelt i procent og angiver direkte hæmoglobinprocenten. Apparatet er justeret således, at 100 pct. svarer til 14.8 g hæmoglobin i 100 ml blod. Dette svarer igen til $14.8 \times 1.34 = 19.8$ volumenprocent ilt. Blodfortyndingen til hæmotestmåling består af 25 mm^3 blod i 7 ml 0.025 pct. ammoniakvand.

Resultatet af dette forsøg ses i tabel 2. Det ses, at der er god overensstemmelse mellem de gasometriske målinger og de spektrofotometriske målinger på Beckman spektrofotometer og på hæmotestapparat. Dette tages som bevis for, at de spektrofotometriske målinger er fuldt pålidelige.

En lignende og meget omfattende undersøgelse af forskellige metoder til hæmoglobinbestemmelse er udført 1947 af *King og medarbejdere*. En række blodprøvers hæmoglobinindhold undersøgtes på forskellige laboratorier ved gasometrisk iltkapacitetsbestemmelse, gasometrisk kuliltekapacitetsbestemmelse før og efter reduktion med natriumditionit, jernanalyse og

	Iltkapacitet gasometrisk	Kuliltekapacitet gasometrisk	Kuliltekapacitet gasometrisk eft. reduktion med ditionit	Kolorimetr. bestemmelse Beckman	Kolorimetr. bestemmelse hæmotest
	vol. pct.	vol. pct.	vol. pct.	vol. pct.	vol. pct.
1	14,85	14,80	14,75	14,75	14,85
2	14,20	14,17	14,17	14,20	14,30

Tabel 2. Resultatet af hæmoglobinbestemmelse med forskellig teknik på 2 forskellige blodprøver fra normale personer.

spektrofotometri. Der fandtes god overensstemmelse mellem analyserne. Dog var der i enkelte af analyserne tendens til for lave værdier ved kuliltekapacitetsbestemmelserne af aktivt hæmoglobin. Dette antoges at skyldes, at analyserne udførtes længe efter blodtagningen, hvorved der var mulighed for en ringe methæmoglobindannelse.

I det her foretagne forsøg undersøgtes blodet hurtigt efter blodtagningen. Der fandtes, som det fremgår af tabellen, intet inaktivt hæmoglobin i prøverne. Hæmoglobinmålingerne er i alle de senere forsøg, hvor der ikke er brugt gasometri til specielle formål, foretaget på Beckman spektrofotometer enten på oxyhæmoglobinopløsninger eller på opløsninger af reduceret hæmoglobin.

3. kapitel.

KVALITATIV OG KVANTITATIV METHÆMOGLOBINBESTEMMELSE

Som tidligere nævnt er opløsninger af methæmoglobin brunlige og mere mørke end opløsninger af oxyhæmoglobin eller reduceret hæmoglobin. Man kan således allerede ved iagttagelse af en abnorm mørk blodprøve få mistanke om, at den indeholder methæmoglobin. Selv så små mængder som 2—3 pct. methæmoglobin vil ændre blodets farve.

For at undersøge om blodet indeholder methæmoglobin, kan man foretage en grov kvalitativ spektroskopisk undersøgelse. Til undersøgelsen bruges oxalat, citrat eller heparinblod. Blodet fortyndes og undersøges i spektroskop. Som allerede vist af *Hoppe-Seyler* (1865), har methæmoglobin et karakteristisk absorptionsbånd ved 630 mμ. Er der methæmoglobin i prøven, ses dette bånd tydeligt. For at udelukke, at det skyldes sulfhæmoglobin, der absorberer i samme område, tilsættes en dråbe kaliumcyanidopløsning eller en dråbe natriumditionitopløsning, hvorved methæmoglobinbåndet forsvinder, idet der dannes henholdsvis cyanmethæmoglobin og reduceret hæmoglobin, der ikke absorberer ved 630 mμ. Undersøgelsen skal ske hurtigt efter blodtagningen, da methæmoglobin har tendens til at forsvinde ved henstand. Dette forhold vil der senere blive gjort rede for.

Til kvantitativ methæmoglobinbestemmelse kan anvendes forskellige metoder. Disse er dels gasometriske, dels spektrometriske. De gasometriske metoder beror på måling af blodets kuliltebindende evne før og efter reduktion med natriumditionit. Methæmoglobin binder ikke kulilte og vil derfor ikke blive bestemt med ved bestemmelsen af aktivt hæmoglobin. Ved tilsætning af natriumditionit til prøven reduceres methæmoglobinet til reduceret hæmoglobin og bliver derfor bestemt med ved bestemmelsen af totalhæmoglobin. Differencen mellem totalhæmoglobin og aktivt hæmoglobin er mål for prøvens methæmoglobinindhold. Mest anvendt til gasometrisk methæmoglobinbestemmelse er *van Slyke og Hillers* metode, der er beskrevet i detailler i forrige kapitel.

De spektrometriske metoder til methæmoglobinbestemmelse bygger på

forskellige principper. Mest anvendt er de metoder, der er baseret på måling af extinktionen ved 630 mμ før og efter cyanidtilsætning til blodprøven. Er der methæmoglobin i prøven, kommer der et extinktionsfald ved cyanidtilsætningen. Dette fald måles og sammenlignes med det extinktionsfald ved 630 mμ, der kommer ved tilsætning af cyanid til prøven, når den er fuldstændigt omdannet til methæmoglobin ved kaliumferricyanidtilsætning. Herved fås et relativt mål for prøvens methæmoglobinindhold. Kendes prøvens totalhæmoglobinindhold, kan det absolutte methæmoglobinindhold beregnes. Metoder, der beror på dette princip, er angivet af *Evelyn og Malloy* (1938), *Havemann, Jung og Issekutz* (1939), *Michel og Harris* (1940) og *Vandenbelt, Pheiffer, Kaiser og Sibert* (1944).

Methæmoglobinets absorptionsforhold er undersøgt i det infrarøde af *Horecker* (1943). Absorptionen ved 800 mμ før og efter cyanidtilsætning anvendtes af *Horecker og Brackett* (1944) til kvantitativ methæmoglobinbestemmelse.

Man kan også bestemme methæmoglobinindholdet i blod uden at anvende cyanidtilsætning, idet man måler extinktionen ved forskellige bølgelængder. Med kendskab til methæmoglobinets og oxyhæmoglobinets specifikke extinktioner kan methæmoglobinkoncentrationen beregnes. Kender man ikke totalhæmoglobinkoncentrationen, er det nødvendigt at måle ved to forskellige bølgelængder. Kendes totalhæmoglobinkoncentrationen, er det tilstrækkeligt at måle extinktionen ved een bølgelængde. Analysemetoder, der beror på dette princip, er blandt andet angivet af *Drabkin og Austin* (1932), *Ray, Blair og Thomas* (1932) og *Hunter* (1951).

Drabkin og Austin (1935 b) viste, at der findes et surt og et alkalisk methæmoglobin med forskellige absorptionskonstanter. De to former for methæmoglobin har isobestiske punkter ved 615 og 520 mμ; kun ved disse bølgelængder er methæmoglobinets absorption uafhængig af opløsningens pH. Ved alle andre bølgelængder vil absorptionen afhænge af blandingsforholdet mellem surt og alkalisk methæmoglobin. Ved pH 8.12 er surt og alkalisk methæmoglobin til stede i lige store mængder. På grund af absorptionens afhængighed af pH er det ved spektroskopiske methæmoglobinanalyser nødvendigt at arbejde ved en fastlagt brintionkoncentration. Dette opnås ved at anvende en stødpudeopløsning til fortynding af blodet.

I dette arbejde gennemprøvedes tre metoder til kvantitativ methæmoglobinbestemmelse. Disse skal beskrives nærmere:

1. Gasometrisk metode. Der anvendtes *van Slyke* og *Hillers* metode med de modifikationer, der er beskrevet i forrige kapitel.
2. Spektrometrisk teknik med cyanidtilsætning til blodet. Der anvendtes en metode, der er beskrevet af *Vandenbelt og medarbejdere* (1944).

De nødvendige reagenser er:

a. Fosfatstødpude pH 6.6 1/60 molær.
b. 5 pct. kaliumferricyanidopløsning.
c. Neutraliseret natriumcyanidopløsning. Denne opløsning fremstilles umiddelbart før brugen ved at blande lige dele 10 pct. natriumcyanidopløsning og 12 pct. eddikesyre.
d. Natriumditionitopløsning, der fremstilles frisk hver dag. 1 g natriumditionit opløses i 10 ml vand, der tilsættes 3 dråber koncentreret ammoniakvand, og opløsningen dækkes med paraffinolie.

Fremgangsmåde: I 4 rundbundede præparatglas afpipetteres 5 ml fosfatstødpude. Med Carlsbergpipette tilsættes hvert glas 100 mm^3 af blodprøven, hvorefter der blandes grundigt. Blodfortyndingerne henstår derefter i 15 minutter til fuldstændig hæmolyse. Opløsningerne bliver ved hæmolysering fuldstændigt klare. Centrifugering har ikke været påkrævet.

Målingerne sker på Beckman spektrofotometer ved 630 $m\mu$, spaltebredde 0.05 mm, der anvendes Wolframlampe og rødfølsom fotocelle. 3 ml af hver af de 2 første blodfortyndinger kommes i hver sin corexcuvette. I en tredje corexcuvette kommes vand, der anvendes som blindprøve. Extinktionen E_1 for de to blodprøver findes. Derefter tilsættes hver prøve en dråbe neutraliseret natriumcyanidopløsning. Der blandes med plastikstav, og extinktionen E_2 aflæses. Differencen mellem extinktionerne før og efter cyanidtilsætning er mål for methæmoglobinindholdet i blodet.

I to andre corexcuvetter hældes 3 ml af de to sidste blodfortyndinger. Der tilsættes 1 dråbe kaliumferricyanidopløsning til begge prøverne samt til blindprøven, hvorved al hæmoglobin i prøven omdannes til methæmoglobin. Extinktionen e_1 aflæses. Derefter tilsættes en dråbe natriumcyanidopløsning til prøverne, der omrøres med plastikstav, og extinktionen e_2 aflæses. Faldet i extinktion er et mål for totalhæmoglobinindholdet.

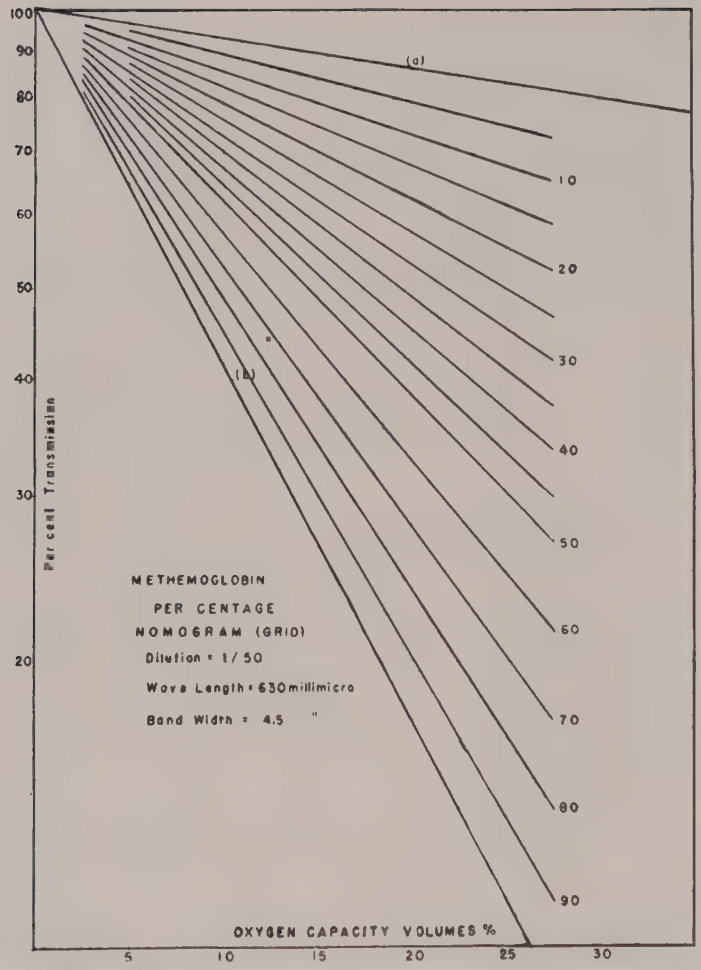
Methæmoglobinindholdet udtrykt i procent af totalhæmoglobinindholdet er: $\frac{E_1 \div E_2}{e_1 \div e_2} \times 100$

Totalhæmoglobinindholdet bestemmes som beskrevet i forrige kapitel efter reduktion af blodet med natriumditionit.

Ønskes methæmoglobinkoncentrationen opgivet i procent af standardhæmoglobin i stedet for i procent af totalhæmoglobin (den relative hæmoglobinprocent) bliver resultatet:

$$\frac{\text{relativ methæmoglobinprocent} \times \text{totalhæmoglobinprocent}}{100} \text{ pct.},$$

hvor 100 pct. svarer til 19.8 volumenprocent ilt.



Figur 3. Efter *Hunter* (1951). Nomogram til methæmoglobinbestemmelse. På abscissen er afsat iltkapaciteten i volumenprocent, på ordinaten til venstre transmissionen og på ordinaten til højre methæmoglobinkoncentrationen i procent af totalhæmoglobin.

3. Spektrometrisk methæmoglobinbestemmelse angivet af *Hunter* (1951). Først bestemmes blodprøvens totalhæmoglobinindhold på den i forrige kapitel angivne måde efter reduktion med natriumditionit. Dernæst fremstilles en blodfortynding ved fortynding af blodet 1/50 med en stødpudeopløsning pH 7.0 1/150 molær. 3 ml af fortyndingen kommes i en corexcuvette, og transmissionen aflæses på Beckman spektrofotometer ved 630 mμ, spaltebredde 0.04 mm, Wolframlampe og rødfølsom fotocelle. Methæmoglobinindholdet i procent af totalhæmoglobinindholdet findes ved aflæsning på nomogrammet (figur 3). Nomogrammet er konstrueret af *Hunter* på følgende måde: Der er anvendt semilogaritmisk millimeter-

	Methæmoglobin i pct. af totalkapaciteten	Gasometr. teknik	Cyanid-teknik	Afvigelse fra gasometri	Hunters teknik	Afvigelse fra gasometri
	Totalkapacitet 19,8 vol.pct.	pct.	pct.		pct.	
1	Blod u. tilsætn.	0	0	0	0	0
2	25 ml blod + 0,010 ml 1 pct. natriumnitrit	2,8	3,0	+ 0,2	2,0	÷ 0,8
3	20 ml blod + 0,025 ml 1 pct. natriumnitrit	6,9	7,0	+ 0,1	6,0	÷ 0,9
4	20 ml blod + 0,030 ml 1 pct. natriumnitrit	7,6	7,5	÷ 0,1	7,0	÷ 0,6
5	20 ml blod + 0,050 ml 1 pct. natriumnitrit	15,3	15,3	0	15,0	÷ 0,3
6	20 ml blod + 0,075 ml 1 pct. natriumnitrit	17,3	17,2	÷ 0,1	15,0	÷ 2,3
7	20 ml blod + 0,100 ml 1 pct. natriumnitrit	21,5	20,6	÷ 0,9	19,0	÷ 2,5
8	20 ml blod + 0,200 ml 1 pct. natriumnitrit	39,0	40,0	+ 1,0	39,0	0
	Totalkapacitet 12,4 vol.pct.					
9	Blod u. tilsætn.	0	0	0	0	0
10	20 ml blod + 0,025 ml $^1/_2$ pct. natriumnitrit	2,4	2,2	÷ 0,2	2,0	÷ 0,4
11	20 ml blod + 0,025 ml 1 pct. natriumnitrit	4,8	4,6	÷ 0,2	4,0	÷ 0,8
12	20 ml blod + 0,050 ml 1 pct. natriumnitrit	9,6	9,3	÷ 0,3	8,0	÷ 1,6
13	20 ml blod + 0,075 ml 1 pct. natriumnitrit	14,5	14,6	+ 0,1	12,0	÷ 2,5
14	20 ml blod + 0,100 ml 1 pct. natriumnitrit	17,7	17,7	0	16,0	÷ 1,7
15	20 ml blod + 0,200 ml 1 pct. natriumnitrit	25,8	25,5	÷ 0,3	25,0	÷ 0,8
	Totalkapacitet 15,7 vol.pct.					
16	Blod u. tilsætn.	0	0	0	0	0
17	20 ml blod + 0,025 ml $^1/_2$ pct. natriumnitrit	1,6	1,7	+ 0,1	1,0	÷ 1,6
18	20 ml blod + 0,025 ml 1 pct. natriumnitrit	3,2	3,1	÷ 0,1	3,5	+ 0,3
	Gennemsnit...	10,55	10,51	÷ 0,04	9,64	÷ 0,91

Tabel 3. Resultater af methæmoglobinbestemmelser på 18 blodprøver udført med 3 forskellige analysemetoder.

papir. På abscissen er angivet blodets iltkapacitet i volumenprocent. På ordinaten er angivet transmissionen ved 630 mμ for 1/50 blodfortynding. Kurven a er fundet ved at måle transmissionerne for kendte hæmoglobinopløsninger indeholdende rent oxyhæmoglobin. Kurven b er fundet ved at måle transmissionerne for kendte hæmoglobinopløsninger, hvor hæmoglobinet er totalt omdannet til methæmoglobin ved tilsætning af kaliumferricyanid. Ordinaten til højre er derefter delt i lige store dele, og der er trukket rette linier gennem de derved fundne punkter og punktet, der svarer til transmissionen 100 og iltkapaciteten o. Aflæsningen sker ved lineær interpolation, idet man kender abscisseværdien fra bestemmelsen af totalkapaciteten og ordinaten fra aflæsningen på spektrofotometret. Omregning af den relative methæmoglobinprocent til procent af standardhæmoglobin sker som ovenfor beskrevet ved gennemgang af cyanidteknikken.

Egne undersøgelser: For at undersøge anvendeligheden af de tre beskrevne analysemetoder foretoges methæmoglobinbestemmelse på en række blodprøver. Samme prøve undersøgtes med alle tre metoder. Der anvendtes oxalat- eller heparinblod. Prøver med varierende methæmoglobinindhold fremstilledes ved at tilsætte forskellige mængder natriumnitritopløsning til blodet.

Resultatet af undersøgelsen ses i tabel 3. Der anvendtes 3 portioner blod, hvis totalkapacitet bestemtes spektrometrisk. Af hver af de 3 blodportioner fremstilledes methæmoglobinholdigt blod ved tilsætning af natriumnitritopløsning i de forhold, der fremgår af tabellen. Prøverne henstod derefter en halv time til methæmoglobindannelse, hvorefter analyserne udførtes med den beskrevne teknik. Som det fremgår af tabellen, var der udmærket overensstemmelse mellem den gasometriske teknik og den spektrometriske cyanidteknik, derimod syntes det, som om *Hunters* teknik gav for lave værdier. Da den gasometriske teknik og den spektrometriske cyanidteknik, der beror på vidt forskellige principper, gav samme resultat, tages dette som bevis for metodernes nøjagtighed. Til alle senere methæmoglobinanalyser i dette arbejde er anvendt teknikken med cyanidtilsætning, da denne metode er hurtig og fuldt pålidelig.

4. kapitel.

KVALITATIV OG KVANTITATIV SULFHÆMOGLOBINBESTEMMELSE

Sulfhæmoglobinholdigt blod har ligesom methæmoglobinholdigt blod en abnorm mørk farve, undertiden med et let grønligt skær. Tilblanding af helt ned til 2 pct. sulfhæmoglobin ændrer blodets farve så meget, at man allerede med det blotte øje kan få mistanke om tilstedeværelse af abnormt blodpigment.

Som først iagttaget af *Hoppe-Seyler* (1863), har sulfhæmoglobin et karakteristisk absorptionsbånd ved 620 mμ. Til en grov kvalitativ undersøgelse for sulfhæmoglobin benytter man sig af påvisning af dette absorptionsbånd. Andre hæmoglobinderivater, der absorberer i samme område som sulfhæmoglobin, er methæmoglobin og det nedenfor omtalte choleglobin. Sulfhæmoglobin skelnes let fra methæmoglobin ved, at absorptionsbåndet ved 620 mμ bliver stående ved tilsætning af natriumditionit eller natriumcyanid, medens methæmoglobinbåndet ved 630 mμ forsvinder, idet der dannes henholdsvis reduceret hæmoglobin og cyanmethæmoglobin, der ikke absorberer i det pågældende område. Adskillelsen af sulfhæmoglobin fra choleglobin vil blive beskrevet senere.

Ved gennemgang af litteraturen finder man kun få metoder beskrevet til kvantitativ sulfhæmoglobinbestemmelse, og der har været berettiget diskussion om deres nøjagtighed. Vanskeligheden ved at skabe en pålidelig analyseteknik er først og fremmest, at det er umuligt at fremstille sulfhæmoglobin i ren form og dermed at skaffe en pålidelig standard som udgangsmateriale for målingerne.

En direkte gasometrisk måling i lighed med de gasometriske methæmoglobinmålinger lader sig ikke anvende. Kuliltemetoden er uanvendelig, idet sulfhæmoglobin i modsætning til methæmoglobin binder kulilte og danner kuliltesulfhæmoglobin. Metoden kan således ikke anvendes til bestemmelse af aktivt hæmoglobin ved tilstedeværelse af sulfhæmoglobin. Da kuliltesulfhæmoglobin vanskeligt afgiver kulilte, kan metoden heller ikke bruges til bestemmelse af totalhæmoglobin, når der er sulfhæmoglobin i blodet. Gasometrisk iltkapacitetsbestemmelse lader sig vel anvende til

bestemmelse af aktivt hæmoglobin, men er uanvendelig til bestemmelse af totalhæmoglobin i sulfhæmoglobinholdigt blod, idet sulfhæmoglobin ikke binder ilt og ikke kan bringes til at binde ilt.

Man har derfor været henvist til at bruge spektrofotometriske metoder til bestemmelse af sulfhæmoglobin. Her møder man igen vanskeligheder, fordi det som nævnt er umuligt at fremstille rene sulfhæmoglobinopløsninger og dermed umuligt at bestemme sulfhæmoglobinets optiske konstanter direkte.

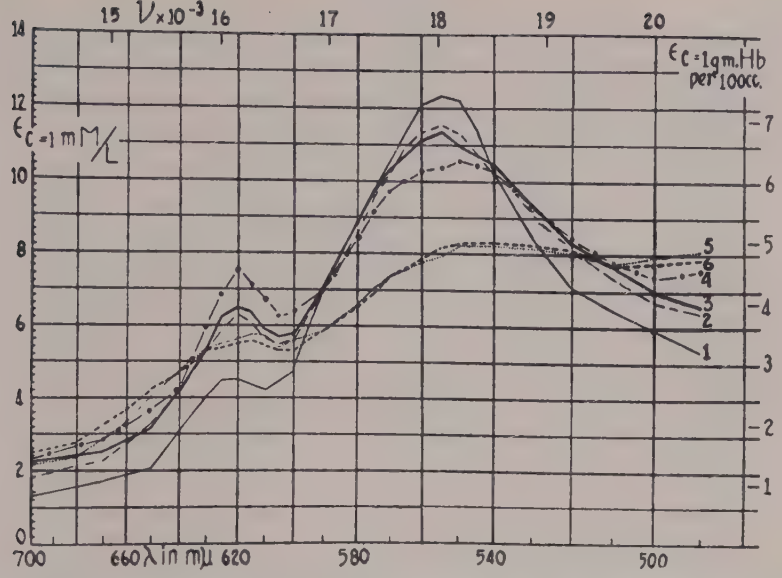
Fremstilling af sulfhæmoglobin til analysebrug sker lettest ved at lede svovlbrinte til en hæmoglobinopløsning. Allerede *Hoppe-Seyler* (1863) fremstillede sulfhæmoglobin på denne måde. *Haurowits* (1926) fremstillede sulfhæmoglobin på samme måde og udvandt krystaller, som han mente indeholdt rent sulfhæmoglobin, men efter senere undersøgelser må det anses for meget tvivlsomt, om krystallerne virkeligt indeholdt rent sulfhæmoglobin (*Lemberg og medarbejdere* 1942).

Michel (1938) angav, at der dannedes sulfhæmoglobin ved tilsætning af sulfid og et peroxyd til hæmoglobin, men kun når hæmoglobinet holdtes reduceret under fremstillingen. Heller ikke for ham lykkedes en 100 procents omdannelse af hæmoglobin til sulfhæmoglobin. Det var ikke muligt at isolere rent sulfhæmoglobin hverken fra sulfhæmoglobinholdigt blod fremstillet i laboratoriet eller fra blod fra patienter med sulfhæmoglobinæmi (*Michel* (1938) og *Lemberg og medarbejdere* (1942)).

I det følgende skal gives en oversigt over de kendte metoder til sulfhæmoglobinanalyse. De første, der angav en teknik til kvantitativ bestemmelse af sulfhæmoglobin, var *Drabkin og Austin* (1935 a). I deres forsøg anvendtes hundeblod. Blodet blev taget ved hjertepunktur, defibrineret og centrifugeret til adskillelse af blodlegemer og serum. Blodlegemerne vaskedes 3 gange med fysiologisk saltvand. Hæmolyse fremkaldtes ved fortynding med 9 dele vand. Opløsningen filtreredes og anvendtes som stamopløsning til forsøgene. Det påvistes, at man fandt mere konstante optiske værdier for hæmoglobin ved anvendelse af hæmoglobinopløsninger fremstillet på denne måde end ved anvendelse af hæmolyseret fuldblod.

Sulfhæmoglobin fremstilledes ved at gennemboble en oxyhæmoglobinopløsning med svovlbrinte. Svovlbrinten fremstilledes i et Kipp-apparat og vaskedes i vand. Udstrømningshastigheden var. ca. 150 bobler per minut, udstrømningsrørets lumen 3 mm. Skumdannelse i opløsningerne modvirkedes ved tilsætning af lidt kaprylalkohol. Det var ikke muligt at fremstille sulfhæmoglobin af reduceret hæmoglobin uden tilstedeværelse af ild. Derimod dannedes sulfhæmoglobin af oxyhæmoglobin ved tilstedeværelse af atmosfærisk luft.

De fremstillede opløsninger undersøgtes i spektrofotometer. Af de af-



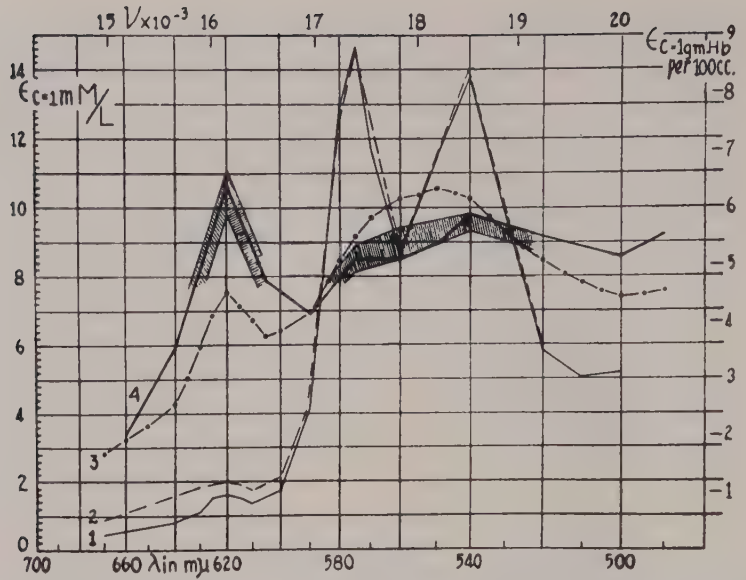
Figur 4. Efter *Drabkin* og *Austin* (1935a). Absorptionskurver for blandinger af reduceret hæmoglobin og sulfhæmoglobin fremstillet ved behandling af hæmoglobinopløsninger med svovlbrinte.

læste extinktioner beregnedes extinktionerne for en opløsning, hvis koncentration var 1 millimol per liter (E_c = 1 millimol/liter).

Figur 4 viser 4 absorptionskurver for blandinger af sulfhæmoglobin og reduceret hæmoglobin fremstillet af *Drabkin og Austin*. Kurverne 1—4 repræsenterer opløsninger fremstillet som angivet ved gennembobling af hæmoglobinopløsninger med svovlbrinte i henholdsvis 4, 8, 8 og 50 minutter. Ved længere tids udsættelse for svovlbrinte end 50 minutter kom der udfældninger bestående dels af pigment og dels af kolloidalt svovl. Desuden dannedes antagelig andre pigmenter end sulfhæmoglobin.

Det var således ikke muligt at få stærkere sulfhæmoglobinopløsninger end den, kurve 4 repræsenterer. At denne ikke indeholdt 100 pct. sulfhæmoglobin fremgik af, at det ikke var muligt at konstruere teoretiske kurver for blandinger af hæmoglobin og sulfhæmoglobin ud fra kurve 4, som lignede kurver for patientblod med sulfhæmoglobinindhold.

På basis af de 4 kurver fandtes de optiske konstanter for sulfhæmoglobin ved bølgelængderne 620, 575, 560 og 540 mμ. Man antog, at de 4 opløsninger, der er repræsenteret ved kurvene, indeholdt varierende mængder sulfhæmoglobin. Ved approximation fandtes de værdier for hæmoglobinkoncentrationen (C_{hb}) og for sulfhæmoglobinkoncentrationen ($1 \div C_{hb}$) for hver af de 4 opløsninger, samt de absorptionskonstanter for sulfhæmoglobin, som bedst tilfredsstillede de 16 ligninger, som kunne opstilles under de



Figur 5. Efter *Drabkin* og *Austin* (1935a). Teoretisk absorptionskurve (kurve 4) for rent sulfhæmoglobin, beregnet ud fra spektrofotometriske målinger på blandinger af reduceret hæmoglobin og sulfhæmoglobin.

givne forhold. Ligningerne var af formen: $C_{hb} \times E_{hb} + (1 \div C_{hb}) \times E_{sulfhb} \div E_{obs} = 0$, hvor E_{hb} er extinktionen for reduceret hæmoglobin, E_{sulfhb} den ukendte extinktion for sulfhæmoglobin og E_{obs} den aflæste extinktion.

I de 16 ligninger er 8 ubekendte, som bestemtes med tilnærmelse. Herved fandtes E_{sulfhb} ved 4 bølgelængder, og en formodet absorptionskurve for sulfhæmoglobin konstrueredes (figur 5). Det skraverede areal angiver grænserne for approximationen.

Med de herved opnåede konstanter for sulfhæmoglobin og de tidligere kendte konstanter for reduceret hæmoglobin og oxyhæmoglobin var det muligt at bestemme indholdet af sulfhæmoglobin i blandinger af sulfhæmoglobin og oxyhæmoglobin eller sulfhæmoglobin og reduceret hæmoglobin. Der fandtes ingen ændringer i absorptionsspektrene ved pH-ændringer fra 6.2 til 10.4 i blandinger af hæmoglobin og sulfhæmoglobin.

Som bevis for rigtigheden af de fundne resultater konstrueredes teoretiske kurver for blandinger af oxyhæmoglobin og sulfhæmoglobin og for reduceret hæmoglobin og sulfhæmoglobin ud fra de fundne konstanter. Disse stemte overens med observerede spektra fra patientblod indeholdende sulfhæmoglobin og fra hæmolyseret blod behandlet med svovlbrinte.

Nijveld (1943) fremstillede sulfhæmoglobin ved at behandle en hæmoglobinopløsning med svovlbrinte i 15—20 minutter. Totalhæmoglobin be-

stemtes ved en jernanalyse. Ved anvendelse af *Drabkin og Austins* konstant ved 620 mμ fandtes sulfhæmoglobinkoncentrationen. Herefter var det muligt at konstruere en absorptionskurve for sulfhæmoglobin, der i sit forløb var meget lig den af Drabkin og Austin fundne. Udfra de konstanter, kurven angav, bestemtes sulfhæmoglobinkoncentrationen ganske som ved *Drabkin og Austins* teknik.

Evelyn og Malloy beskrev i 1938 i tilslutning til deres beskrivelse af en teknik til bestemmelse af methæmoglobin en metode til bestemmelse af eventuelt tilstedeværende sulfhæmoglobin i prøven. De bestemte totalhæmoglobin ved at måle prøven ved 540 mμ, efter at methæmoglobin og hæmoglobin var omdannet til cyanmethæmoglobin ved tilsætning af kaliumferricyanid og natriumcyanid. Til resultatet lagdes en korrektion for sulfhæmoglobin. Methæmoglobin bestemtes ved måling ved 635 mμ før og efter natriumcyanidtilsætning. Sulfhæmoglobin bestemtes ved måling ved 620 mμ, efter at pigmenterne var omdannet til en blanding af cyanmethæmoglobin og sulfhæmoglobin. Metoden er unøjagtig og angiver kun tilnærmelsesvise værdier for sulfhæmoglobinkoncentrationen.

Jope (1946) undersøgte blod fra 7 trinitrotoluolarbejdere og fandt sulfhæmoglobin i blodet. Til kvantitativ bestemmelse anvendtes spektrofotometriske målinger ved 620 og 540 mμ. Til bestemmelsen anvendtes den af *Drabkin og Austin* fundne konstant ved 540 mμ 9.9, og ved 620 mμ anvendtes en lidt højere konstant, 13. Forfatteren angiver, at metoden er uprækis på grund af vanskeligheden ved at finde sulfhæmoglobinets optiske konstanter. Han mente derfor ikke, han fandt et absolut korrekt resultat, men vel et resultat, der kunne sammenlignes fra tilfælde til tilfælde og ved målinger på samme patient til forskellige tider.

Dod, Bierman og Shimkin (1951) anvendte i forsøg på mus og kaniner forholdet mellem extinktionerne ved 620 og 540 mμ som mål for sulfhæmoglobinindholdet i blodet til forskellige tider.

Lemberg og medarbejdere (1942) omdannede hæmoglobinderivaterne til kulilteforbindelser for at bestemme sulfhæmoglobin i blandinger af sulfhæmoglobin og oxyhæmoglobin eller sulfhæmoglobin og reduceret hæmoglobin. Det fremhævedes af dem, at anvendelse af reduceret hæmoglobin (som *Drabkin og Austin*) er usikkert, fordi det er umuligt at undgå tilblanding af ilt, eller hvis der anvendes reduktion med natriumditionit, tilblanding af brintoverilte. Dette vil bevirke en yderligere dannelse af sulfhæmoglobin i blandingen. Ved anvendelse af kulilteforbindelserne undgås dette, idet kuliltehæmoglobin er mere stabilt. Man fandt, at *Drabkin og Austins* metode gav reproducible resultater, når pH var mere end 7, og sulfhæmoglobinopløsningen ikke skulle fortyndes til den spektrometriske måling.

Kuliltesulfhæmoglobinets optiske konstanter fandtes på samme måde, som *Drabkin og Austin* havde fundet konstanterne for sulfhæmoglobin. For at undgå unøjagtighed i målingerne som følge af uklarhed i opløsningerne måltes extinktionen ved 740 mμ, hvor de undersøgte hæmoglobinderivater kun har ubetydelig absorption, og den målte extinktion hovedsagelig er udtryk for uklarhed i opløsningen. Denne værdi subtraheredes fra målingerne ved maximal absorption (617 og 570 mμ). For kuliltesulfhæmoglobin fandtes følgende konstanter for opløsninger indeholdende 1 g kuliltesulfhæmoglobin per liter: $E_{617} \div E_{740} = 0.94$ og $E_{570} \div E_{740} = 0.49$.

Konstanterne for kuliltehæmoglobin var kendte, og følgende ligninger opstilledes:

$$(1) \quad h = 0.115\ ((E_{570} \div E_{740}) \div 0.52\ (E_{617} \div E_{740}))$$

$$(2) \quad s = 0.11\ \ ((E_{617} \div E_{740}) \div 0.04\ (E_{570} \div E_{740}))$$

hvor h og s angiver hæmoglobin og sulfhæmoglobinkoncentrationerne i g per 100 ml blod, E_{570}, E_{617} og E_{740} er de observerede extinktioner.

Som nævnt har forskellige forskere i deres forsøg på at fremstille sulfhæmoglobin opnået højst forskellige resultater. *Lemberg og medarbejdere* (1942) viste, at grunden til uoverensstemmelserne ihvertfald til dels kan forklares ved, at sulfhæmoglobindannelsen in vitro ledsages af dannelse af choleglobin eller choleglobinlignende pigmenter.

Da choleglobin også dannedes i en række af forsøgene i dette arbejde, skal der gives en kort oversigt over dets egenskaber og bestemmelse.

Lemberg, Legge og Lockwood (1938) fandt, at der i en opløsning af hæmoglobin og ascorbinsyre i fosfatstødpude pH 7.6 ved henstand i 48 timer ved 20 grader dannedes et grønt pigment med et absorptionsbånd ved 674 mμ. Ved reduktion med natriumditionit svandt dette bånd og erstattedes med et ved 630 mμ. Denatureredes globinet med natriumhydroxyd eller pyridin, dannedes et hæmochromogen med et absorptionsbånd ved 619 mμ. Det nye pigment kaldtes choleglobin og dets hæmochromogen cholehæmochromogen.

Choleglobin forbandt sig reversibelt med kulilte. Forbindelsen med absorption ved 674 mμ antoges at være oxycholeglobin. Reduceret choleglobin havde absorptionsmaximum ved 630 mμ, kuliltecholeglobin ved 617 mμ og kuliltecholehæmochromogen ved 630 mμ. *Lemberg og medarbejdere* er de første, der har formået nærmere at udrede forholdene ved hæmoglobinets nedbrydning. Dannelsen af grønne pigmenter i hæmoglobinopløsninger er ganske vist en gammel iagttagelse, men nomenklaturen er forvirrende og opfattelsen af de enkelte pigmenters natur ligeledes. *Barkan og Schales* (1937, 1938 b) fremhævede således, at det af dem beskrevne »pseudohæmoglobin« var samme pigment som *Lembergs* chole-

globin. Det vistes af *Lemberg, Legge og Lockwood* (1941 a), at pseudohæmoglobin er et denatureret hæmoglobinderivat og ikke identisk med choleglobin. I en række arbejder uddybede *Lemberg og medarbejdere* yderligere forholdene ved choleglobinets dannelse og dets egenskaber.

En simpel metode til fremstilling af choleglobinet var henstilling af 0.7 pct. hæmoglobinopløsninger med 0.1 pct. ascorbinsyre ved pH 7.2 og temperatur 37 grader i 4 mm lag. Herved dannedes choleglobin (*Lemberg og medarbejdere* 1941 a).

Processen forklaredes som en koblet oxydation af oxyhæmoglobin og ascorbinsyre, hvorved 2 brintatomer overføres fra ascorbinsyre til oxyhæmoglobin. Herved dannes en ustabil brintoveriltehæmoglobinforbindelse, der nedbrydes til choleglobin (*Lemberg og medarbejdere* 1939).

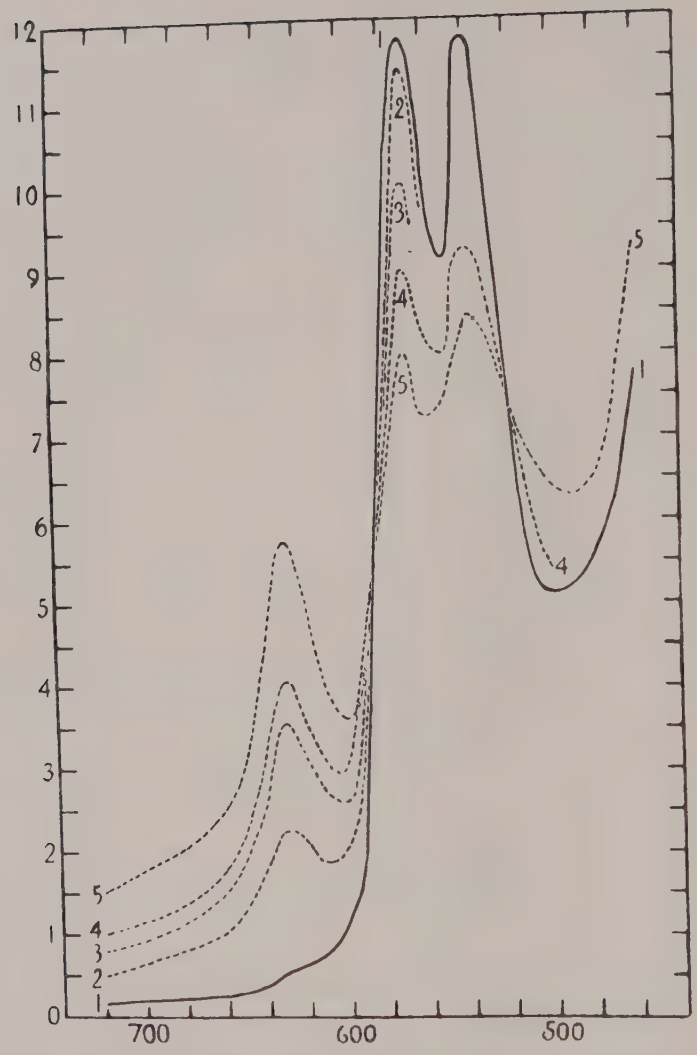
Ved henstand af opløsningen i mere end 45 minutter fremkom grønne udfældninger, cholehæmochromogen og andre denaturerede hæmoglobinprodukter.

Choleglobinet var opløseligt i neutrale opløsninger, cholehæmochromogenet kun i sure eller alkaliske opløsninger. Det var ikke muligt at fremstille rene choleglobinopløsninger.

Choleglobindannelsen skete hurtigere ved pH 8.5 end ved pH 7.2, hurtigere ved 37 grader end ved 25 grader. Lavt ilttryk omkring 15 mm fremskyndede processen. Tilstedeværelsen af ascorbinsyre i opløsningen fremskyndede choleglobindannelsen (*Lemberg og medarbejdere* 1941 a). I stedet for ascorbinsyre kunne anvendes reducton, glutation, cystein, adrenalin eller phenylhydrazin.

Det antages, at choleglobinets prostetiske gruppe er et jernholdigt galdepigment. Choleglobinets slægtskab med galdepigmenterne bekræftedes ved, at der under choleglobindannelsen kom stigning i »labile iron«, idet omkring 66 pct. af choleglobinjern fraspaltedes på 16 timer med 1/10 normal saltsyre (*Lemberg, Legge og Lockwood* 1941 b). Det vistes endvidere, at ved spaltning med eddikesyre gav choleglobin, biliverdin og biliviolin, og at langvarig indvirkning af ascorbinsyre på choleglobin var i stand til at frigøre biliverdin. (*Lemberg, Legge og Lockwood* 1941 c).

Det var vanskeligt at bestemme choleglobin i opløsninger, hvor choleglobin blev fremstillet af oxyhæmoglobin ved koblet oxydation med ascorbinsyre. I sådanne opløsninger er der nemlig mulighed for tilstedeværelse af oxyhæmoglobin, reduceret hæmoglobin, oxycholeglobin, reduceret choleglobin og eventuelt methæmoglobin. Vanskeligheden blev overvundet ved at omdanne pigmenterne til hæmochromogener ved tilsætning af natriumhydroxyd og natriumditionit (*Lemberg og medarbejdere*, 1941 b, 1942). Ved anvendelse af kulilteforbindelserne og nøje fastlagt teknik var det muligt at opnå reproducible resultater. Omdannelsen til kuliltehæmochromo-



Figur 6. Efter *Lemberg, Legge* og *Lockwood* (1941 b). Absorptionskurver for blandinger af kuliltehæmochromogen og kuliltecholehæmochromogen.

gen skete på følgende måde: 5 ml hæmoglobinopløsning mættedes med kulilte ved gennembobling i 3 minutter. Derefter tilsattes 50 mg natriumditionit og 0.5 ml 20 pct. natriumhydroxyd, og til slut gennembobledes opløsningen yderligere 1 minut med kulilte.

Figur 6, der stammer fra *Lembergs* arbejde (1941 b), viser absorptionskurver for kuliltehæmochromogener fremstillet af 1.2 pct. oxyhæmoglobin med 100 mg ascorbinsyre, pH 8.5 og henstand ved 37 grader og omdannet til kuliltehæmochromogener som beskrevet. Kurve 1 repræsenterer rent

kuliltehæmochromogen. Kurverne 2—5 repræsenterer stigende mængder kuliltecholehæmochromogen, idet opløsningen før spektrofotometrisk måling havde henstået som anført i henholdsvis 15, 30, 60 og 120 minutter. En direkte måling af kuliltecholehæmochromogenets specifike extinktioner var ikke mulig, da det viste sig umuligt at fremstille opløsninger, der udelukkende indeholdt kuliltecholehæmochromogen. Derimod var det muligt på basis af kurverne at beregne de specifike extinktioner under forudsætning af, at opløsningerne kun indeholdt kuliltehæmochromogen og kuliltecholehæmochromogen.

Extinktionerne for kuliltehæmochromogen kunne bestemmes direkte af kurve 1. Beregningen af kuliltecholehæmochromogenets extinktioner kunne ske på samme måde som ved *Drabkin og Austins* beregning af sulfhæmoglobinets konstanter. Man fandt følgende konstanter for opløsninger indeholdende 1 g per liter:

	740 mμ	630 mμ	570 mμ
kuliltehæmochromogen	0.005	0.030	0.86
kuliltecholehæmochromogen	0.25	0.86	0.39

For at undgå unøjagtighed på grund af tilfældige uklarheder, foretoges også måling ved 740 mμ, hvor de to pigmenter absorberer svagt. Disse værdier subtraheredes fra målingerne ved 630 mμ og 570 mμ. Ligningerne til bestemmelse af choleglobin i blandinger af oxyhæmoglobin og choleglobin blev herefter:

$$(3) \quad h = 0.115\,((E_{570} \div E_{740}) \div 0.45\,(E_{630} \div E_{740}))$$

$$(4) \quad ch = 0.115\,((E_{630} \div E_{740}) \div 0.03\,(E_{570} \div E_{740}))$$

hvor h er koncentrationen af kuliltehæmochromogen og ch koncentrationen af kuliltecholehæmochromogen i g per 100 ml, E_{570}, E_{630} og E_{740} er de målte extinktioner.

Som nævnt viste *Lemberg og medarbejdere* (1942), at grunden til uoverensstemmelser mellem forskellige forskeres iagttagelser vedrørende sulfhæmoglobin i hvert fald til dels kunne forklares ved, at sulfhæmoglobindannelsen in vitro er ledsaget af choleglobindannelse. Det lykkedes at udarbejde en teknik til kvantitativ bestemmelse af choleglobin, sulfhæmoglobin og hæmoglobin i samme opløsning. Teknikken beror på, at det er muligt at omdanne blandingen af de tre pigmenter til en blanding af to, hvorefter bestemmelsen er simpel, når de specifike extinktioner er kendte.

Som nævnt svinder choleglobinbåndet ikke ved behandling med natriumhydroxyd og ditionit, men erstattes af et bånd ved 619 mμ. Sulfhæmoglobinbåndet svinder derimod ved denne behandling. Dette princip anvendes til at skelne sulfhæmoglobin og choleglobin fra hinanden. I praksis kan prø-

ven udføres på følgende måde: 5 ml af hæmoglobinopløsningen gennembobles med kulilte i 3 minutter, hvorefter der tilsættes 50 mg natriumditionit og 0.5 ml 20 pct. natriumhydroxyd, og kuliltegennemboblingen fortsættes yderligere 1 minut. Choleglobin omdannes ved denne behandling til kuliltecholehæmochromogen med et absorptionsbånd ved 630 mμ, medens sulfhæmoglobinets absorptionsbånd forsvinder.

Den *Lemberg'ske* metode til bestemmelse af choleglobin kunne således anvendes til analyse af blandinger af sulfhæmoglobin, choleglobin og hæmoglobin, idet choleglobin omdannedes til cholehæmochromogen, hæmoglobin og sulfhæmoglobin til hæmochromogen ved behandling med natriumhydroxyd og ditionit.

For at undgå unøjagtigheder ved bestemmelsen på grund af uklarheder i opløsningen subtraheredes extinktionen ved 740 mμ også her fra de målte extinktioner ved 630 og 570 mμ. Der arbejdedes med kulilteforbindelser, og ligningerne (3) og (4) kunne anvendes til bestemmelse af choleglobin i blandinger af oxyhæmoglobin, sulfhæmoglobin og choleglobin, idet h i ligning (3) i dette tilfælde er koncentrationen af kuliltehæmochromogen (dannet af oxyhæmoglobin og sulfhæmoglobin) i g per 100 ml og ch i ligning (4) koncentrationen af kuliltecholehæmochromogen i g per 100 ml.

For kuliltecholeglobin er fundet følgende absorptionsværdier for opløsninger indeholdende 1 g per liter. $E_{617} \div E_{740} = 0.85$ og $E_{570} \div E_{740} = 0.45$. Disse er meget nær de tilsvarende for sulfhæmoglobin og tillader, at den tidligere beskrevne metode til sulfhæmoglobinbestemmelse kan bruges til bestemmelse af summen af choleglobin og sulfhæmoglobin i blandinger, der indeholder hæmoglobin, choleglobin og sulfhæmoglobin. Ligningerne (1) og (2) kan således også bruges i dette tilfælde, hvor h i ligning (1) er koncentrationen af kuliltehæmoglobin i g per 100 ml og s i ligning (2) koncentrationen af kuliltecholeglobin + kuliltesulfhæmoglobin i g per 100 ml.

Ved hjælp af de to sæt ligninger var det herefter muligt at bestemme alle tre pigmenter kvantitativt i blandinger af hæmoglobin, choleglobin og sulfhæmoglobin.

Som bevis for metodens holdbarhed vistes, at i en række analyser fandtes samme totalkoncentration, hvad enten man anvendte første eller andet sæt ligninger.

Det vistes med den anførte teknik, at jo længere en hæmoglobinopløsning behandledes med svovlbrinte, jo mere choleglobin dannedes der ved siden af sulfhæmoglobin. Med ammoniumsulfid dannedes næsten lige dele sulfhæmoglobin og choleglobin.

Choleglobin kan i almindelighed ikke påvises i kliniske tilfælde af sulfhæmoglobinæmi. Dog fandt *Lemberg og medarbejdere* (1942) hos een

patient med 21 pct. sulfhæmoglobin efter sulfanilamidindtagelse 2.5 pct. choleglobin. Med svovlbrinte var det muligt i initialstadiet at fremstille sulfhæmoglobinopløsninger frie for choleglobin. Det faktum, at der i regelen ikke kan påvises choleglobin i kliniske tilfælde af sulfhæmoglobinæmi, kan skyldes de mildere forhold, sulfhæmoglobindannelsen sker under in vivo, samt stromaets beskyttende egenskaber og ringe ascorbinsyreindhold i blodlegemerne. Det er også muligt, at der altid sker en choleglobindannelse samtidig med sulfhæmoglobindannelsen, men at choleglobin hurtigt omdannes videre til biliverdin, medens sulfhæmoglobinet forbliver uomdannet.

Disse undersøgelser bringer rigtigheden af *Drabkin og Austins* sulfhæmoglobinbestemmelse i tvivl, idet deres opløsninger, som blev fremstillet ved langvarig svovlbrintebehandling, må have indeholdt store mængder choleglobin. Imidlertid ligner absorptionskurven for choleglobin og sulfhæmoglobin hinanden så meget, at dette kan forklare, at *Drabkin og Austin* ikke opdagede, at der antagelig var et tredje pigment i deres opløsninger. Deres teknik kan således ikke anvendes til at bestemme sulfhæmoglobin, men derimod til bestemmelse af summen af sulfhæmoglobin og choleglobin. Også *Nijvelds* sulfhæmoglobinopløsninger må antages at have indeholdt rigeligt choleglobin, og hans teknik behæftet med samme usikkerhed som *Drabkin og Austins.*

Egne undersøgelser: Fremstillingen af sulfhæmoglobinopløsninger uden væsentlig choleglobintilblanding voldte i begyndelsen vanskeligheder. At det var umuligt at fremstille opløsninger med en fuldstændig omdannelse af hæmoglobin til sulfhæmoglobin, viste sig snart, idet der i alle hæmoglobinopløsninger, hvor der var mere end 20 pct. sulfhæmoglobin, tillige var dannet en betydelig mængde choleglobin bestemt med *Lembergs* metode til choleglobinbestemmelse.

Den af *Michel* beskrevne metode til fremstilling af sulfhæmoglobin ved tilsætning af natriumsulfid og et peroxyd til en hæmoglobinopløsning under anaerobe forhold syntes på forhånd mere tiltalende end fremstilling af sulfhæmoglobin ved tilledning af svovlbrinte til hæmoglobinopløsningen, idet det er muligt nøje at fastlægge forsøgsbetingelserne og nøjagtigt at gradere tilsætningen af natriumsulfid og peroxyd. *Michels* teknik gennemprøvedes på følgende måde:

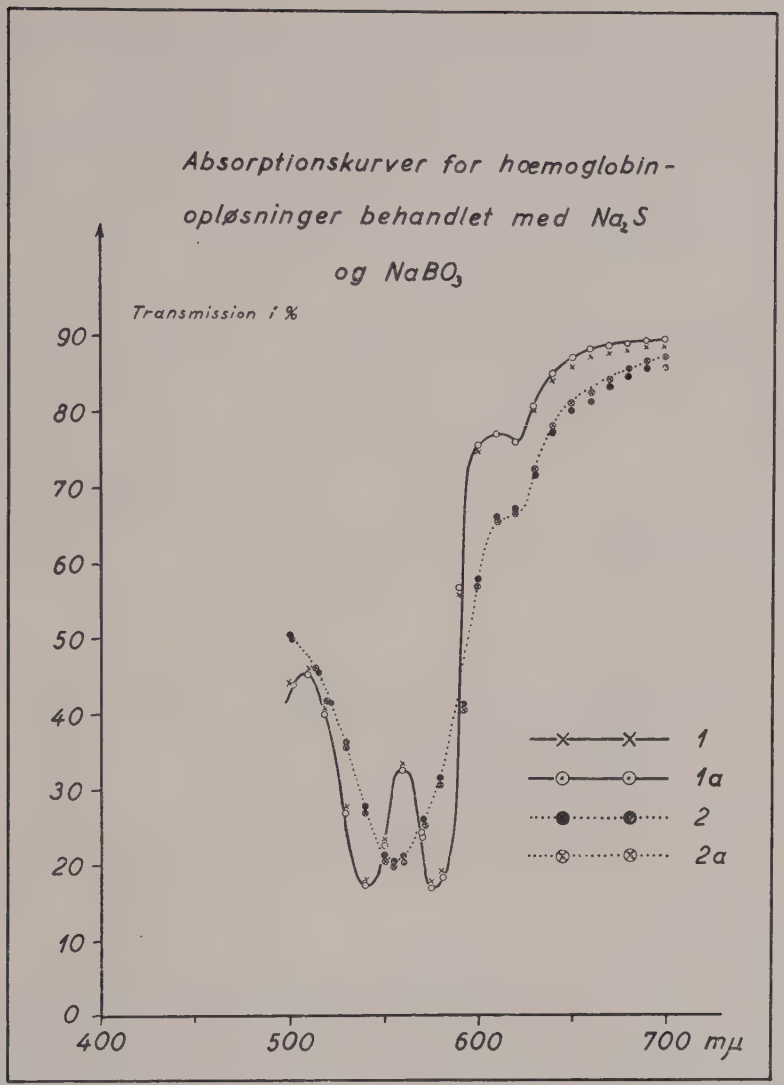
Blodprøvens totalkapacitet bestemtes på sædvanlig måde ved måling på Beckman spektrofotometer ved 575 mμ i fortynding 1/200 i 0.1 pct. natriumcarbonat. Efter at totalkapaciteten var bestemt, fortyndedes blodprøven 1/50 med stødpude pH 7.4. 5 ml af blodfortyndingen holdtes fuldstændigt reduceret i vacuumpumpe. Gennem et siderør tilsattes varierende mængder af en 0.005 normal natriumsulfidopløsning og af en 2 pct. na-

Totalkapacitet 12,5 vol. pct. fortyndet 1/50 pH 7.4	Transmissionen ved 620 mμ			
	oxyhæmoglobin		reduceret hæmoglobin	
	a	b	a	b
5 ml blodfort. + 4 ml 0,005 n Na_2S + 1 ml H_2O + 0,3 ml 2 pct. natriumperborat	76,8	76,8	67,3	67,3
5 ml blodfort. + 3 ml 0,005 n Na_2S + 2 ml H_2O + 0,3 ml 2 pct. natriumperborat	77,5	78,8	68,9	69,5
5 ml blodfort. + 2 ml 0,005 n Na_2S + 3 ml H_2O + 0,3 ml 2 pct. natriumperborat	79,6	75,8	70,8	68,6
5 ml blodfort. + 1 ml 0,005 n Na_2S + 4 ml H_2O + 0,3 ml 2 pct. natriumperborat	86,2	85,2	77,2	76,2

Tabel 4. Transmissionerne ved 620 mμ for opløsninger behandlet med natriumsulfid og natriumperborat uden luftens adgang efter Michels teknik. Grupperne a og b er fremstillet på nøjagtig samme måde. Grupperne til venstre er målt straks efter behandlingen, grupperne til højre er først målt efter reduktion med natriumditionit.

triumperboratopløsning. Der dannedes derved abnorme blodpigmenter visende sig ved abnorm absorption ved 620—630 mμ. Der udførtes en række forsøg i den hensigt at opnå reproducerbare resultater. Som det ses af tabel 4, lykkedes det virkeligt at opnå reproducerbare resultater ved nøjagtigt at udføre forsøgene som beskrevet. Således var det muligt at få samme absorptionskurver ved samme tilsætning af natriumsulfid og natriumperborat til samme hæmoglobinopløsning. Det viste sig, at stigende mængder natriumsulfid gav stigende absorption ved 620 mμ, hvorimod natriumperboratkoncentrationen i forsøgene var uden betydning indenfor de anvendte koncentrationer. Ved henstand i luften tiltog absorptionen ved 620 mμ stærkt. Figur 7 viser en typisk absorptionskurve fra disse forsøg. Alle kurverne havde en tilsvarende form.

Det antoges oprindeligt, at det herved var lykkedes at fremstille rene opløsninger af sulfhæmoglobin og reduceret hæmoglobin eller oxyhæmoglobin. Beregninger på nævnte kurver med det formål at beregne sulfhæmoglobinets optiske konstanter som angivet af *Drabkin og Austin* gav imidlertid så forvirrende og varierende resultater, at det måtte overvejes, om det virkeligt var lykkedes at fremstille sulfhæmoglobin på denne måde, eller om der ikke snarere foruden sulfhæmoglobin og hæmoglobin fandtes et tredje pigment i blandingen. Det viste sig da, at ved tilsætning af natriumhydroxyd og natriumditionit holdt den abnorme absorption ved 620 mμ sig uforandret. Som foran beskrevet forsvinder sulfhæmoglobinets absorptionsbånd ved denne behandling, og det var dermed bevist, at der ikke dannedes sulf-



Figur 7. Absorptionskurver for hæmoglobinopløsninger, der er fremstillet ved fortynding af blod med en totalkapacitet på 12,5 volumenprocent 1/50 med stødpude pH 7,0 og behandling med natriumsulfid og natriumperborat (5 ml 1/50 blodfortynding + 4 ml 0,005 normal natriumsulfid + 1 ml vand + 0,3 ml 2 pct. natriumperboratopløsning).

hæmoglobin ved anvendelse af den *Michel'ske* teknik, men choleglobin eller choleglobinlignende pigmenter. De fundne absorptionskurver var således uanvendelige til bestemmelse af sulfhæmoglobinets konstanter, og yderligere forsøg på anvendelse af *Michels* teknik måtte opgives.

I stedet søgtes sulfhæmoglobin fremstillet ved at gennemboble blod med

svovlbrinte. Svovlbrinten fremstilledes i et svovlbrinteapparat af ferrosulfid og koncentreret saltsyre. Apparatet var forsynet med et fraledningsrør. Svovlbrinten ledtes gennem et porcelænsfilter og gennem vand i en vaskeflaske. Den frastrømmende svovlbrintemængde reguleredes med en klemhane. Til fremstilling af sulfhæmoglobinholdige hæmoglobinopløsninger har metoden den ulempe, at det er umuligt nøjagtigt at gradere den tilsatte svovlbrintemængde og dermed sulfhæmoglobindannelsens omfang.

For at undersøge om der ved svovlbrintetilførslen til blodet ved siden af sulfhæmoglobin og choleglobin dannedes hæmoglobinnedbrydningsprodukter, udførtes en række forsøg, hvor blodprøverne undersøgtes for hæmoglobinbundet syreuopløseligt jern før og efter svovlbrintetilførslen. Findes sådanne nedbrydningsprodukter i større mængde, vil en del af det hæmoglobinbundne jern fraspaltes og derfor ikke blive bestemt med ved jernanalysen. Findes der derimod ingen hæmoglobinnedbrydningsprodukter, vil jernanalyserne før og efter svovlbrintetilførslen give samme resultat.

Jernanalysen udførtes med en teknik, der er angivet af *Brøchner-Mortensen og Olsen* (1940).

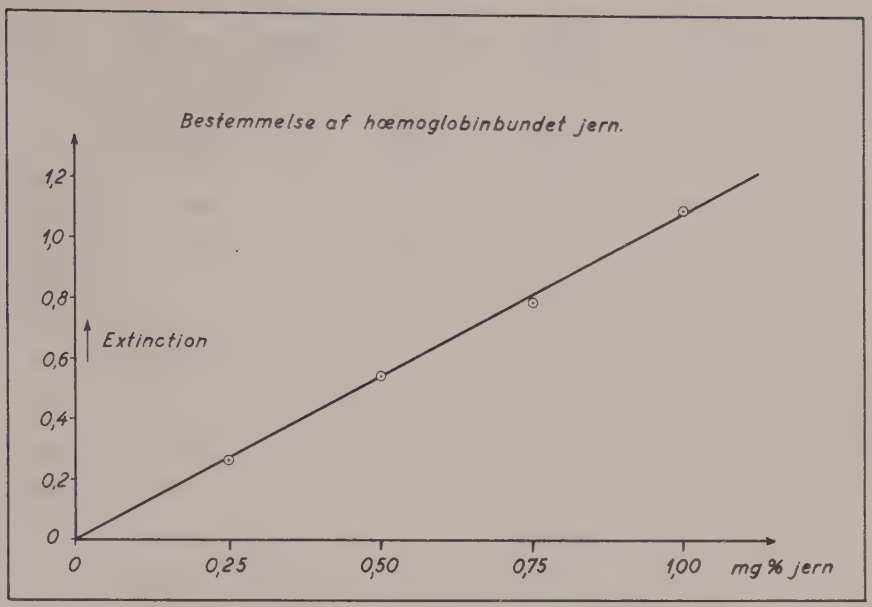
De nødvendige reagenser er:

1) Trichloreddikesyre 20 pct., jernfri.
2) Koncentreret salpetersyre.
3) Koncentreret svovlsyre.
4) 5 normal kaliumrhodanid, jernfri.
5) Redestilleret vand.

Glas og pipetter skal renses i 10 pct. saltsyre og redestilleret vand for at være rene for jern.

Analysen udførtes på følgende måde:

Blodprøven fortyndedes 1/200 med redestilleret vand. Til 8 ml af den fortyndede prøve sattes 4 ml trichloreddikesyre, der rystedes grundigt, hvorved protein udfældedes. Prøven centrifugeredes, og den klare vædske pipetteredes fra. Jern, der eventuelt var spaltet fra hæmoglobinet, ville opløses i trichloreddikesyren og således ikke blive bestemt med ved jernanalyse på bundfaldet. Bundfaldet opslemmedes i redestilleret vand og førtes over i et pyrexglas. Til destruktion af bundfaldet anvendtes 2 ml koncentreret salpetersyre og 1 ml koncentreret svovlsyre, der forsigtigt hældtes i pyrexglasset. Destruktionen foregik over elektrisk brænder i en halv time. Den klare opløsning hældtes over i en 10 ml målekolbe, og der fyldtes efter til mærket med redestilleret vand. Til 10 ml sattes 2 ml kaliumrhodanid, hvorved der fremkom en rød farve. Opløsningens extinktion E_1 aflæstes på Beckman spektrofotometer ved 530 mμ, spaltebredde 0.08 mm inden 10 minutter.



Figur 8. Kurve til bestemmelse af hæmoglobinbundet jern.

Blindværdien E_0 bestemtes på samme måde ved anvendelse af redestilleret vand i stedet for blodfortyndingen. Ved anvendelse af kurven (figur 8) og værdien af $E_1 \div E_0$ fandtes jernindholdet direkte i mg pct.

Kurven konstrueredes ved anvendelse af en kendt jernopløsning, der behandledes som foran beskrevet. Abscissen er mg pct. jern i opløsningen. Ordinaten er den fundne extinktion ÷ blindværdien.

Tabel 5 viser resultatet af 16 forsøg. På samtlige prøver er der foretaget gasometrisk iltkapacitetsbestemmelse før og efter svovlbrintetilførslen. Differencen mellem de to målinger er et mål for prøvernes indhold af sulfhæmoglobin og choleglobin. Desuden er der gjort jernbestemmelse på prøverne før og efter svovlbrintetilførslen. Endelig er choleglobinindholdet i procent af sulfhæmoglobinindholdet bestemt kolorimetrisk med *Lembergs* teknik.

Det ses af tabellen, at der trods rigelig sulfhæmoglobindannelse ikke er sket nogen ændring i indholdet af hæmoglobinbundet jern. Dette viser, at der ikke ved denne fremstilling af sulfhæmoglobin er dannet nedbrydningsprodukter af hæmoglobin med let afspalteligt jern. Man har derfor regnet med, at der i de fremstillede opløsninger ikke fandtes andre hæmoglobinderivater end oxyhæmoglobin, reduceret hæmoglobin, sulfhæmoglobin og choleglobin.

Følgende forsøg blev gjort for at bestemme sulfhæmoglobinets specifike extinktion ved 620 mμ. Konstanten beregnedes for 1 millimol per liter. Til forsøgene anvendtes heparin eller citratblod.

	Gasometri totalkapacitet	Jern i udgangs-prøven	Jern i sulfhæmo-globinprøven	Sulf. + ch. gas	Chole-globin
	vol.pct.	mg.pct.	mg.pct.	vol.pct.	pct.
1	18,4	53	55	4,1	5,3
2	18,4	53	54	2,8	6,2
3	18,4	53	53	2,6	0
4	20,5	58	57	5,7	0
5	20,5	58	58	5,1	0
6	20,5	58	57	3,3	5,0
7	20,5	58	58	3,4	0,8
8	20,5	58	55	3,1	1,5
9	19,7	57	57	3,4	1,7
10	19,7	57	56	3,4	0
11	19,7	57	57	2,5	0
12	19,7	57	58	2,3	0
13	19,7	57	57	0,4	0
14	19,7	57	56	2,0	0
15	19,7	57	58	4,1	4,2
16	19,7	57	57	4,5	3,3

Tabel 5. Hæmoglobinbundet jern i blodet før og efter behandling med svovlbrinte. Tabellen viser desuden prøvernes totalkapacitet, sulfhæmoglobinindhold og choleglobinindhold i procent af sulfhæmoglobin.

Totalkapaciteten på udgangsprøven bestemtes dels på sædvanlig måde ved måling på spektrofotometer ved 575 mμ i fortynding 1/200 i 0.1 pct. natriumcarbonat og aflæsning på kurven, dels ved gasometrisk iltkapacitetsmåling.

Derefter fremstilledes sulfhæmoglobinholdigt blod ved kortvarig gennembobling med svovlbrinte. Der fremstilledes opløsninger med varierende sulfhæmoglobinindhold ved at lade svovlbrinte boble gennem blodet i varierende tid. I intet tilfælde varede gennemboblingen mere end eet minut. Svovlbrintebehandlingen skete på ufortyndet blod. Derefter bestemtes prøvernes choleglobinindhold som angivet af *Lemberg*. Prøven fortyndedes 1/200 i stødpude pH 7.0. 5 ml af fortyndingen gennembobledes med lysgas i 3 minutter. Derefter tilsattes under fortsat gasgennembobling ½ ml 5 normal natriumhydroxyd og nogle få natriumditionitkrystaller. Gasgennemboblingen fortsattes i yderligere 2 minutter. Opløsningens extinktion måltes derefter i spektrofotometer ved 740, 630 og 570 mμ, og choleglobinet bestemtes efter de forannævnte ligninger (3) og (4), hvor h er koncentrationen af hæmoglobin + sulfhæmoglobin i g per 100 ml og ch koncentrationen af choleglobin i g per 100 ml. $\frac{ch \times 100}{ch + h}$ angiver choleglobin i pct. af totalhæmoglobin.

Større mængder choleglobin ville som nævnt forstyrre bestemmelserne af sulfhæmoglobinets konstanter. Prøver med større choleglobinindhold var således uanvendelige til formålet, og prøver med mere end 25 pct. choleglobin (i procent af sulfhæmoglobin + choleglobin) blev derfor på forhånd udeladt.

På prøver med mindre end 25 pct. choleglobin gjordes iltkapacitetsbestemmelse med *van Slyke og Neills* metode. Teknikken er beskrevet i et tidligere kapitel. Kuliltekapacitetsbestemmelser som mål for aktivt hæmoglobin var som tidligere nævnt uanvendelige på grund af sulfhæmoglobins evne til at binde kulilte.

Idet man antog, at den fundne iltkapacitet var et mål for prøvens aktive hæmoglobin, kunne indholdet af sulfhæmoglobin + eventuelt choleglobin bestemmes som differencen mellem totalhæmoglobin og aktivt hæmoglobin.

Prøverne måltes derefter i fortynding 1/200 i stødpude pH 7.0 efter reduktion med natriumditionit ved 620 mμ, spaltebredde 0.05 mm. Man kendte nu hver prøves totalkapacitet, dens indhold af reduceret hæmoglobin og dens indhold af sulfhæmoglobin (+ eventuelt choleglobin). Den specifike extinktion for reduceret hæmoglobin kendes og er ved 620 mμ 1.81 per millimol per liter. Det var derefter muligt at bestemme den specifike extinktion for sulfhæmoglobin for hver enkelt prøve, idet

$$E_{målt} = 1.81 \times C_{hb} + E_{sulf\ 620} \times C_{sulfhb},$$ hvor C_{hb} og C_{sulfhb}

er koncentrationerne af reduceret hæmoglobin og sulfhæmoglobin i millimol per liter og $E_{sulf\ 620}$ den søgte extinktion for sulfhæmoglobin. Resultaterne af 30 sådanne bestemmelser ses i tabel 6.

I 9 forsøg var choleglobinindholdet udtrykt i procent af sulfhæmoglobin + choleglobinindholdet mindre end 2 pct. Choleglobinets indflydelse på extinktionen må i disse forsøg regnes for umålelig, og da man regnede med, at der ikke var andre hæmoglobinnedbrydningsprodukter til stede, må beregningerne af de specifike extinktioner for sulfhæmoglobin ved 620 mμ og for kuliltesulfhæmoglobin ved 617 mμ være korrekte. Gennemsnittet for de to værdier i de 9 forsøg er henholdsvis 13.0 og 16.6.

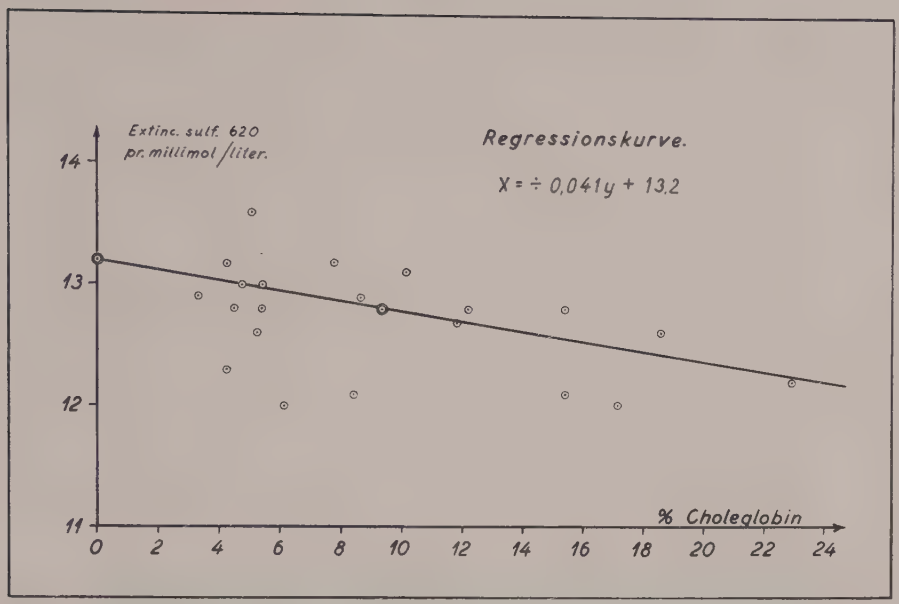
I de 21 forsøg var der et større choleglobinindhold (3.3—22.9 pct. af sulfhæmoglobin + choleglobin). Ved beregning af E_{620} og E_{617} vil man i disse forsøg ikke finde de specifike extinktioner for sulfhæmoglobin og kuliltesulfhæmoglobin, men extinktioner for sulfhæmoglobin + choleglobin og for kuliltesulfhæmoglobin + kuliltecholeglobin, der vil være afhængige af sulfhæmoglobinets og choleglobinets mængdeforhold. Alligevel kunne de 21 forsøg bruges til beregning af de søgte konstanter, idet man undersøgte extinktionernes afhængighed af choleglobinkoncentrationen. Ved hjælp af de mindste kvadraters metode bestemtes regressionskurven for denne afhæn-

	Totalkapac. gas.	Sulfhgb. gas.	Ch. i pct. af s + ch.	E_{620}	$E_{Co\,617}$
	vol.pct.	vol.pct.			
1	14,1	2,1	0	13,1	16,1
2	18,4	2,6	0	13,7	17,6
3	20,5	5,7	0	12,7	16,6
4	20,5	3,4	0,8	13,4	16,8
5	20,5	3,1	1,5	13,0	17,1
6	19,7	3,4	1,7	12,7	14,8
7	19,7	3,4	0	13,2	17,8
8	19,7	2,5	0	13,3	17,3
9	19,7	2,0	0	12,0	15,5
10	14,1	1,9	8,4	12,1	16,5
11	14,1	6,1	15,3	12,1	14,3
12	14,1	3,2	10,1	13,1	15,5
13	14,1	4,6	15,3	12,8	15,9
14	14,1	2,0	7,8	13,2	16,7
15	14,1	3,1	8,6	12,9	16,6
16	14,1	1,2	6,1	12,0	15,7
17	16,3	2,7	5,4	12,8	16,7
18	16,3	3,4	11,8	12,7	14,8
19	16,3	3,7	18,5	12,6	14,9
20	16,3	4,0	17,1	12,0	15,2
21	16,3	4,3	22,9	12,2	14,7
22	18,4	4,1	5,3	13,0	15,3
23	20,5	3,3	5,0	13,6	17,7
24	14,1	3,0	12,1	12,8	15,0
25	19,7	4,1	4,2	12,3	15,3
26	19,7	4,5	3,3	12,9	15,0
27	23,7	5,0	4,2	13,2	16,1
28	23,7	6,2	4,7	13,0	15,1
29	23,7	6,3	4,5	12,8	15,6
30	23,7	5,9	5,2	12,6	14,8

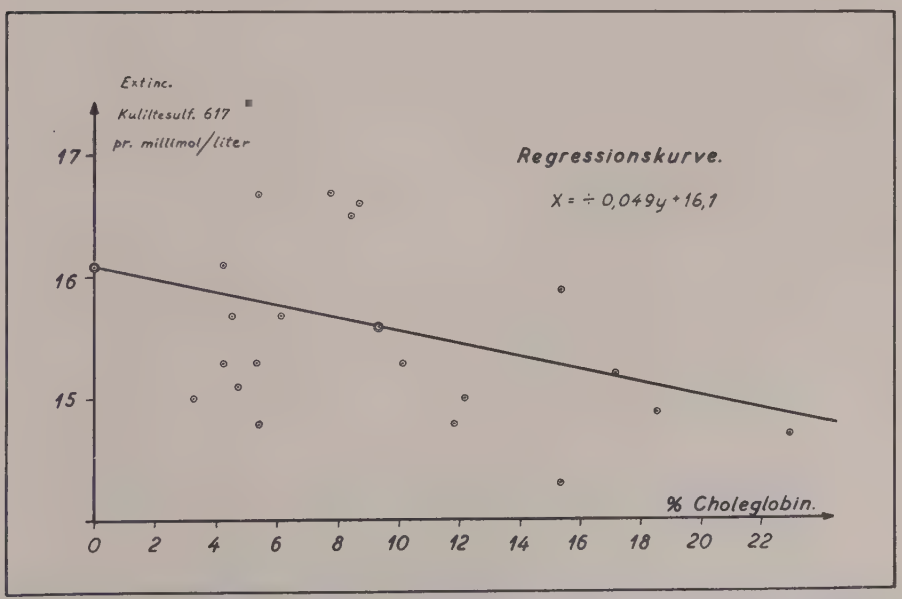
Tabel 6. Beregnede extinktioner for sulfhæmoglobin ved 620 mμ og for kuliltesulfhæmoglobin ved 617 mμ. Desuden viser tabellen prøvernes totalkapacitet, sulfhæmoglobinindholdet som differens mellem iltkapaciteten før og efter svovlbrintetilsætningen, samt choleglobinindholdet.

gighed. Ligningen for sulfhæmoglobinets extinktion ved 620 mμ blev $x = \div 0.041\,y + 13.2$. Kurven ses på figur 9. Det ses, at når choleglobinkoncentrationen er 0, er E_{620} 13.2. For kuliltesulfhæmoglobinets extinktion ved 617 mμ fandtes regressionsligningen $x = \div 0.049\,y + 16.1$. Kurven ses på figur 10. Når choleglobinindholdet er 0, er E_{617} 16.1.

Man har således fundet experimentelt, at extinktionen for sulfhæmoglobin beregnet for koncentrationen 1 millimol/liter ved 620 mμ er 13.0—13.2. I det følgende har man regnet med værdien 13.0. Denne værdi er lidt



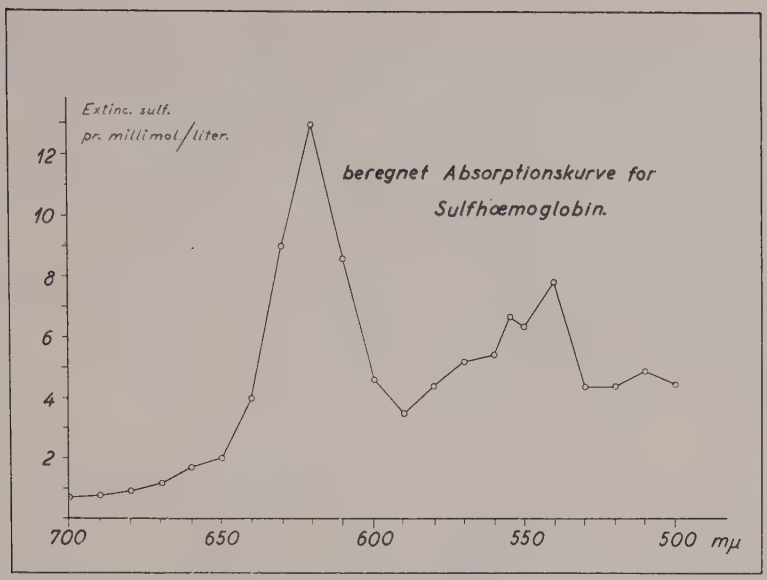
Figur 9. Regressionskurve, der viser afhængigheden mellem extinktionerne for sulfhæmoglobin ved 620 mμ og choleglobinindholdet i 21 forsøg.



Figur 10. Regressionskurve, der viser afhængigheden mellem extinktionerne for kuliltesulfhæmoglobin ved 617 mμ og choleglobinindholdet i 21 forsøg.

	Totalhgb. vol. pct.	Sulf. + ch. vol. pct.	Ch. pct. af sulf. + ch.	700	690	680	670	660	650	640	630	620	610	600	590	580	570	560	555	550	540	530	520	510	500
1	14,1	3,2	20,5	0,9	1,2	1,2	1,6	2,1	2,6	4,9	7,7	13,0	8,5	4,5	2,5	2,8	3,6	2,0	2,5	2,4	4,7	3,4	2,9	3,0	3,9
2	14,1	4,3	21,4	0,5	0,5	0,7	0,9	1,5	2,2	4,6	9,7	13,0	8,8	5,4	4,2	5,5	6,3	5,3	5,8	5,7	7,1	5,6	4,7	5,1	4,9
3	14,1	3,7	18,2	0,4	0,6	0,6	0,8	1,3	1,9	4,9	9,8	13,0	8,7	4,8	4,2	5,6	6,3	5,2	5,9	6,0	6,4	5,6	4,2	4,0	4,4
4	14,1	3,2	16,9	0,1	0,2	0,4	0,5	0,4	1,2	3,2	8,7	13,0	8,6	4,6	4,0	5,0	5,5	4,8	5,2	5,7	6,3	5,8	3,9	4,1	3,5
5	12,9	4,6	16,3	1,0	1,0	1,2	1,3	1,4	2,3	4,6	9,4	13,0	8,6	5,4	4,8	6,2	6,8	6,5	6,9	6,9	8,3	6,3	5,1	5,3	5,3
6	12,9	2,9	2,7	1,2	1,2	1,2	1,2	1,5	1,9	3,8	9,6	13,0	8,5	5,3	4,6	6,3	8,0	7,8	8,2	8,1	9,4	6,6	5,4	5,1	5,4
7	12,9	2,4	10,6	2,0	1,8	1,8	2,1	2,6	2,9	4,6	9,5	13,0	8,5	5,7	4,5	7,0	8,5	8,6	9,5	9,2	10,9	7,9	5,7	6,0	5,7
8	15,2	2,7	14,4	0,4	0,2	0,7	1,1	1,5	1,6	3,1	8,5	13,0	8,4	4,4	3,3	4,3	4,7	4,8	7,3	7,1	7,9	5,9	3,6	4,4	4,0
9	15,2	2,1	16,7	1,1	0,8	0,9	1,5	2,2	2,3	4,1	9,5	13,0	9,5	4,6	3,1	3,6	4,3	6,5	10,2	9,0	10,0	7,5	4,2	5,0	4,3
10	15,2	1,7	10,6	0	0	0,6	0,8	1,4	1,5	3,3	8,4	13,0	7,2	3,6	0,8	1,8	2,2	6,2	7,5	7,8	10,1	6,9	2,8	3,9	3,9
11	15,2	2,9	7,1	0,5	0,5	0,7	1,1	1,7	1,8	3,9	9,0	13,0	8,8	4,3	3,8	4,5	5,4	5,8	7,4	6,7	7,9	6,4	4,4	5,4	4,4
12	15,2	2,5	18,3	0,5	0,5	0,6	1,1	1,7	1,7	3,4	8,7	13,0	8,5	4,2	3,2	3,9	5,1	5,9	8,1	7,9	9,0	7,1	5,0	5,6	4,9
13	15,2	2,0	5,8	0,4	0,4	0,6	1,1	1,9	1,9	3,5	9,2	13,0	8,5	3,5	2,1	2,9	3,9	5,2	7,6	6,9	9,5	7,1	4,6	5,5	4,1
14	15,2	3,2	14,9	0,5	0,8	0,9	1,2	1,6	2,1	4,1	8,7	13,0	8,7	4,7	3,7	4,1	4,2	4,1	5,4	5,0	5,7	4,9	3,9	4,5	3,6
15	15,2	3,5	13,3	0,8	1,2	1,2	1,5	2,1	2,3	3,3	8,6	13,0	8,6	5,1	4,5	5,1	5,6	5,7	6,8	6,5	6,8	6,2	4,6	5,4	4,6
16	15,2	2,8	19,5	1,0	1,1	1,0	1,4	1,7	2,3	3,9	9,2	13,0	8,8	4,1	2,3	2,4	2,0	1,3	2,6	2,0	5,8	5,4	4,4	5,5	4,4
Gennemsnit	..	..	..	0,7	0,8	0,9	1,2	1,7	2,0	4,0	9,0	13,0	8,6	4,6	3,5	4,4	5,2	5,4	6,7	6,4	7,9	4,3	4,3	4,9	4,5

Tabel 7. På basis af extinktionsmålinger af 16 sulfhæmoglobinholdige hæmoglobinopløsninger er beregnet de teoretiske extinktioner for sulfhæmoglobin i koncentrationen 1 millimol/liter mellem 700 og 500 mμ. Desuden er angivet prøvernes iltkapacitet, sulfhæmoglobinindhold og choleglobinindhold.



Figur 11. Absorptionskurve for sulfhæmoglobin beregnet på basis af extinktionsmålinger på 16 sulfhæmoglobinholdige blodprøver under forudsætning af, at $E_{sulf\ 620}$ er 13.0.

højere end fundet af *Drabkin og Austin*. De angav 11.0, men som anført må man regne med, at deres værdi var for lav, fordi de antagelig arbejdede med prøver med rigeligt choleglobinindhold uden at tage hensyn til dette i beregningerne.

For kuliltesulfhæmoglobin har man fundet en extinktion for 1 millimol/liter ved 617 mμ på 16.1—16.6. Dette svarer til værdien, der blev fundet af *Lemberg og medarbejdere*. De angav 16.0 som den korrekte værdi.

Efter at sulfhæmoglobinets specifike extinktion for 1 millimol per liter ved 620 mμ var fastlagt til 13, forsøgte man at fastlægge sulfhæmoglobinets absorptionskurve mellem 700 og 500 mμ. Der fremstilledes en ny serie sulfhæmoglobinholdige prøver med kendt totalkapacitet. Extinktionen for hver enkelt prøve måltes ved 620 mμ i fortyndingen 1/200 pH 7.0 efter reduktion med natriumditionit, og sulfhæmoglobinkoncentrationen bestemtes under forudsætning af, at $E_{620\ sulf} = 13$, idet $E_{målt} = 1.81 \times (C_{totalhb} \div C_{sulf}) + 13 \times C_{sulf}$, hvor koncentrationen af sulfhæmoglobin (C_{sulf}) er den eneste ubekendte.

Herefter bestemtes absorptionskurven for den reducerede prøve mellem 700 og 500 mμ i hvert enkelt tilfælde. De specifike extinktioner for reduceret hæmoglobin var kendte, og da koncentrationen af reduceret hæmoglobin og sulfhæmoglobin også var kendte, kunne de specifike extinktioner for sulfhæmoglobin ved hver enkelt bølgebredde beregnes. Extinktionerne beregnedes for hver bølgelængde med 10 mμ's afstand mellem 700 og

500 mμ. Resultaterne fra 16 forsøg ses i tabel 7. Gennemsnittet for hver bølgelængde beregnedes, og en gennemsnitskurve optegnedes (figur 11). Kurven har maximum ved 620 og 540 mμ, minimum ved 590 mμ. I forløbet svarer den til de kurver, *Drabkin, Austin og Nijveld* fandt. Ved 560 mμ er den gennemsnitlige extinktion i de 16 forsøg 5.4. Da alle prøverne indeholdt choleglobin, er værdien bestemt for lavt. Man har i det følgende regnet med en værdi på 6.0 for rent sulfhæmoglobin.

Man havde herved med tilnærmelse fastlagt 2 optiske konstanter for sulfhæmoglobin og skulle herefter være i stand til at bestemme koncentrationen af sulfhæmoglobin i blandinger af sulfhæmoglobin og reduceret hæmoglobin, idet man ved bølgelængderne 620 mμ og 560 mμ har:

$$E_{målt\ 620} = C_{hb} \times E_{hb\ 620} + C_{sulf} \times E_{sulf\ 620}$$
$$E_{målt\ 560} = C_{hb} \times E_{hb\ 560} + C_{sulf} \times E_{sulf\ 560},$$

hvor koncentrationerne af reduceret hæmoglobin og sulfhæmoglobin (C_{hb} og C_{sulf}) er de eneste ubekendte.

Analysen udførtes på følgende måde: Blodet fortyndedes 1/200 med 1/150 normal fosfatstødpude pH 7.0. Der foretoges reduktion med natriumditionit (1 dråbe natriumditionitopløsning til 5 ml hæmoglobinopløsning. Natriumditionitopløsningen fremstilledes af 1 g natriumditionit i 10 ml vand tilsat 1 dråbe koncentreret ammoniakvand). Måling på spektrofotometret skete ved 620 mμ, spaltebredde 0.05 mm og 560 mμ, spaltebredde 0.08 mm.

På basis af ovennævnte ligninger fandtes, under hensyntagen til fortyndingen følgende ligninger, der direkte giver iltkapaciteten af sulfhæmoglobin og reduceret hæmoglobin i volumenprocent:

$$(5) \quad C_{hb} = 35.8 \times E_{målt\ 560} \div 16.5 \times E_{målt\ 620}$$
$$(6) \quad C_{sulf} = 36.8 \times E_{målt\ 620} \div 5 \times E_{målt\ 560}.$$

Hæmoglobinkoncentrationen i procent bliver $\frac{C_{hb} \times 100}{19.8}$ pct., sulfhæmoglobinkoncentrationen $\frac{C_{sulf} \times 100}{19.8}$ pct., hvor 100 pct. svarer til 19.8 volumenprocent ilt.

For at undersøge resultaterne af sulfhæmoglobinbestemmelse med den beskrevne spektrofotometriske teknik, *Lembergs* teknik og gasometrisk teknik, hvor sulfhæmoglobinkoncentrationen bestemtes som differencen mellem totalhæmoglobin og aktivt hæmoglobin, udførtes følgende forsøg:

Der fremstilledes atter en række sulfhæmoglobinholdige blodprøver. Totalkapaciteten var i forvejen bestemt gasometrisk. På 20 prøver bestemtes sulfhæmoglobinindholdet, dels som difference mellem totalkapaciteten og kapaciteten for det aktive hæmoglobin bestemt med *van Slykes* metode til

iltkapacitetsbestemmelse, dels med den fremstillede spektrofotometriske teknik. Endelig udførtes på prøverne sulfhæmoglobinbestemmelse med den af *Lemberg og medarbejdere* angivne teknik. Denne udførtes på følgende måde: Blodet fortyndedes 1/200 i stødpude pH 7.0, gennembobledes med gas i 3 minutter og måltes på spektrofotometer ved 570, 617 og 740 mμ. Ved anvendelse af de tidligere beskrevne ligninger (1) og (2) fandtes hæmoglobinkoncentrationen (h) og sulfhæmoglobin + choleglobinkoncentrationen (s) i gram per 100 ml. Choleglobinkoncentrationen fandtes som foran beskrevet. Resultaterne af de 20 forsøg ses i tabel 8.

Som det ses, er der i de fleste tilfælde udmærket overensstemmelse mellem de tre metoder. Dog synes *Lembergs* metode at give resultater for totalhæmoglobin, der ligger i underkanten af de i forvejen kendte totalværdier.

Medens udarbejdelsen af metoden til sulfhæmoglobinbestemmelse stod på, lykkedes det at fremskaffe blod fra 2 patienter med betydelig sulfhæmoglobinæmi. De havde henholdsvis 8 pct. og 18 pct. sulfhæmoglobin i procent af totalhæmoglobin efter den angivne teknik.

For yderligere at vurdere nøjagtigheden af den angivne teknik blev der på blodet fra de 2 patienter foretaget følgende analyser:

1. Gasometrisk iltkapacitetsbestemmelse.
2. Gasometrisk kuliltekapacitetsbestemmelse.
3. Sulfhæmoglobinbestemmelse ad modum *Lemberg*.
4. Sulfhæmoglobinbestemmelse med egen teknik.
5. Måling af reduceret prøve ved 555 mμ og angivelse af totalhæmoglobin uden hensyn til tilstedeværende sulfhæmoglobin.
6. Måling på hæmotest uden hensyn til tilstedeværende sulfhæmoglobin.

På den ene patient blev målingerne foretaget ialt 8 gange med nogle dages mellemrum, medens sulfhæmoglobinæmien tabte sig. Resultaterne ses i tabel 9.

Det ses, at der i næsten alle tilfælde er fuldstændig overensstemmelse mellem egen teknik og *Lembergs* teknik. Desuden passer iltkapacitetsbestemmelserne smukt med de spektrometriske resultater. Når også kuliltekapacitetsbestemmelserne synes at svare til iltkapacitetsbestemmelserne til trods for, at der dannes kuliltesulfhæmoglobin, beror det antagelig på, at kuliltesulfhæmoglobin kun langsomt afgiver kulilte.

Målingerne på hæmotest og på Beckman spektrofotometer ved 555 mμ gav afvigende resultater, men dette var også at vente, da disse metoder til bestemmelse af totalhæmoglobin på forhånd kunne regnes for uegnede, da de kun er nøjagtige, når det drejer sig om rent hæmoglobin.

Den smukke overensstemmelse mellem de gasometriske og de spektrofotometriske sulfhæmoglobinbestemmelser samt mellem egen og *Lembergs*

	Totalkapacitet i vol. pct.					Sulfhæmoglobin i vol. pct.					Ch. i pct. af sulf. + ch.
	Gasometri	Egen teknik	Afvigelse fra gas.	Lemberg	Afvigelse fra gas.	Gasometri	Egen teknik	Afvigelse fra gas.	Lemberg	Afvigelse fra gas.	
1	18,4	19,8	+ 1,4	18,3	÷ 0,1	4,1	3,9	÷ 0,2	3,6	÷ 0,5	5,3
2	18,4	19,8	+ 1,4	18,3	÷ 0,1	2,8	2,4	÷ 0,4	2,1	÷ 0,7	6,2
3	18,4	19,4	+ 1,0	18,8	+ 0,4	2,6	2,6	0	2,6	0	0
4	20,5	21,1	+ 0,6	19,8	÷ 0,7	5,7	5,5	÷ 0,2	5,5	÷ 0,2	0
5	20,5	21,4	+ 0,9	19,8	÷ 0,7	5,1	4,5	÷ 0,6	4,5	÷ 0,6	0
6	20,5	19,4	÷ 1,1	17,4	÷ 3,1	3,3	3,6	+ 0,3	3,7	+ 0,4	5,0
7	20,5	20,2	÷ 0,3	18,3	÷ 2,2	3,4	3,6	+ 0,2	3,5	+ 0,1	0,8
8	20,5	18,8	÷ 1,7	17,7	÷ 2,8	3,1	3,3	+ 0,2	3,3	+ 0,2	1,5
9	19,7	19,4	÷ 0,3	18,3	÷ 1,4	3,4	3,4	0	3,1	÷ 0,3	1,7
10	19,7	19,7	0	18,5	÷ 1,2	3,4	3,4	0	3,7	+ 0,3	0
11	19,7	19,5	÷ 0,2	18,3	÷ 1,4	2,5	2,6	+ 0,1	2,6	+ 0,1	0
12	19,7	19,2	÷ 0,5	18,1	÷ 1,6	2,3	2,2	÷ 0,1	2,0	÷ 0,3	0
13	19,7	18,4	÷ 1,3	18,4	÷ 1,3	0,4	0,6	+ 0,2	0,8	+ 0,4	0
14	19,7	19,1	÷ 0,6	18,6	÷ 1,1	2,0	1,9	÷ 0,1	2,1	+ 0,1	0
15	19,7	18,3	÷ 1 4	16,7	÷ 3,0	4,1	4,1	0	3,8	÷ 0,3	4,2
16	19,7	18,7	÷ 1,0	17,3	÷ 2,4	4,5	4,6	+ 0,1	4,0	÷ 0,5	3,3
17	23,7	23,6	÷ 0,1	21,8	÷ 1,9	5,0	5,1	+ 0,1	5,1	+ 0,1	4,2
18	23,7	24,3	+ 0,6	22,1	÷ 1,6	6,2	6,2	0	5,9	÷ 0,3	4,7
19	23,7	24,5	+ 0,8	21,9	÷ 1,8	6,3	6,0	÷ 0,3	5,2	÷ 1,1	4,5
20	23,7	24,3	+ 0,6	21,8	÷ 1,9	5,9	5,6	÷ 0,3	5,1	÷ 0,8	5,2
Gennemsnit	20,5	20,4	÷ 0,06	19,0	÷ 1,5	3,8	3,75	÷ 0,05	3,61	÷ 0,19	..

Tabel 8. Resultater af sulfhæmoglobinbestemmelser udført med 3 forskellige analysemetoder.

	Totalkapacitet vol. pct.		Aktivt hæmoglobin vol. pct.					Sulfhæmoglobin vol. pct.		Methgb.	Hæmotest	Beckman 555 mμ
	Egen teknik	Lemberg	Egen teknik	Lemberg	CO-kap.	CO-kap. efter ditionit	O_2-kap.	Egen teknik	Lemberg			
1.....	..	15,8	..	14,4	14,5	14,5	14,5	..	1,4	0	15,9	16,0
2.....	13,7	12,9	10,8	10,6	12,2	12,2	12,2	2,9	2,3	0	14,6	12,9
3.....	13,1	13,3	11,5	11,5	13,3	13,3	13,3	1,6	1,8	0	14,3	12,6
4.....	13,7	14,2	12,3	12,6	13,7	13,6	13,6	1,4	1,5	0	15,7	15,1
5.....	14,8	14,7	13,7	13,4	13,6	13,6	13,4	1,1	1,3	0	16,8	15,8
6.....	16,3	15,9	15,2	14,9	14,9	14,9	15,0	1,1	1,0	0	17,5	16,9
7.....	14,7	14,7	14,0	14,0	14,0	14,0	14,1	0,7	0,7	0	17,6	15,9
8.....	15,2	15,2	14,7	14,7	14,6	14,6	14,6	0,5	0,5	0	17,6	16,2
9.....	14,9	14,8	14,6	14,5	14,3	14,3	14,5	0,3	0,3	0	17,0	15,3

Tabel 9. Resultatet af bestemmelse af totalkapacitet, aktivt hæmoglobin, sulfhæmoglobin og methæmoglobin med forskellig teknik på 2 patienter. Prøve nr. 1 stammer fra en patient, prøverne nr. 2—9 fra en anden patient, taget med nogle dages mellemrum.

teknik er taget til indtægt for, at det hermed virkeligt er lykkedes at bestemme sulfhæmoglobin kvantitativt med tilstrækkelig nøjagtighed.

Fordelen ved den her konstruerede teknik fremfor den *Lemberg'ske* er, at man på samme prøve kan bestemme både sulfhæmoglobin og methæmoglobinindholdet, medens den *Lemberg'ske* giver forkerte resultater og er uanvendelig ved tilstedeværelse af methæmoglobin. Desuden synes den *Lemberg'ske* teknik at give for lave værdier for totalhæmoglobin.

På alle senere prøver af blod med abnormt blodpigment er herefter gjort methæmoglobin- og sulfhæmoglobinbestemmelse, idet fremgangsmåden har været følgende:

1. Måling af methæmoglobin ved pH 6.6 bølgebredde 630 mμ som angivet i kapitlet om methæmoglobinbestemmelse.
2. Måling af sulfhæmoglobin ved pH 7.0 og bølgebredde 620 mμ og 560 mμ og indsættelse i de angivne formler (5) og (6).
3. Er der ikke sulfhæmoglobin i prøven findes totalhæmoglobin ved reduktion og måling ved 555 mμ som tidligere beskrevet.
4. Er der sulfhæmoglobin i prøven, fås totalhæmoglobin direkte af formlerne.

5. kapitel.

TEORIER OM CARBHÆMOGLOBINFORBINDELSER OG PARAAMINOFENOL SOM ÅRSAG TIL MEDICAMENTEL CYANOSE

Ved sine undersøgelser over cyanosen efter sulfanilamidindtagelse fandt *Kallner* (1942) intet eller kun minimale mængder met- eller sulfhæmoglobin i blodet hos de cyanotiske patienter. Som årsag til cyanosen lykkedes det ham derimod at påvise et andet farvet stof i blodet, og han antog, at dette stof var en mørkfarvet forbindelse mellem blodets carbhæmoglobin og det medikament, der fremkaldte cyanosen. Han beskæftigede sig især med cyanosen efter sulfanilamidindgift, men mente også, at cyanosen efter indgift af acetanilid, phenacetin, anilin og andre cyanosefremkaldende stoffer kunne forklares på denne måde.

Carbhæmoglobinets forhold blev indgående behandlet i *Henriques'* disputats (1929). Det dannes i blodet under normale forhold og spiller en vigtig rolle for blodets kuldioxydtransport. Carbhæmoglobin antages at være en komplex forbindelse, der dannes af et hæmoglobin- og et kuldioxydmolekyle og derved kommer til at indeholde en carbaminogruppe — NHCOOH. Denne kan fraspalte en brintion H^+ og reagere med en base. Carbhæmoglobin er en ustabil forbindelse, der spaltes overordentligt let under frigørelse af kuldioxyd. *Kallners* teori går ud på, at de cyanosefremkaldende stoffer, når de har basekarakter, indgår saltagtige forbindelser med carbhæmoglobin. Han hævdede, at disse forbindelser var mørkere end normalt hæmoglobin og anså dem for at være årsagen til cyanosen. Sådanne forbindelser var ikke tidligere kendt, og det lykkedes ikke at isolere dem, hvorfor de måtte anses for at være overmåde labile. Dette skulle være forklaringen på, at det kan være vanskeligt at påvise abnorme hæmoglobinforbindelser i blodet fra patienter med medicamentel cyanose, især når blodet har henstået nogen tid efter blodtagningen og derved haft lejlighed til at afgive kuldioxyd.

Som støtte for sin teori udførte *Kallner* en lang række forsøg og fandt

ved direkte iagttagelse af blod fra sulfanilamidbehandlede patienter og fra normale følgende:

1. Røde blodlegemer fra en sulfanilamidbehandlet patient var mørke. Den mørke farve svandt hurtigt, når blodlegemerne vaskedes med fysiologisk saltvand. Den mørke farve svandt ligeledes, men langsommere efter dialyse af blodet.
2. Dialysatet var næsten farveløst.
3. Normalt blod blev mørkt, når dialysatet fra sulfanilamidbehandlet blod tilsattes. Hvis dialysatet sattes til vaskede blodlegemer, forblev farven uforandret.
4. Hvis plasma fra en sulfanilamidbehandlet patient sattes til blodlegemer fra en normal person, blev de straks mørke.
5. Under langvarig rystning af blod fra en sulfanilamidbehandlet patient blev farven lidt efter lidt lysere.
6. Hvis plasma fra en sulfanilamidbehandlet patient først rystedes i luften i lang tid og derefter sattes til normale blodlegemer, blev farven kun lidt mørkere.
7. Blodlegemerne blev ved forsøgene mørkere, hvad enten det drejede sig om reduceret eller oxyderet blod.
8. Hvis mørke blodlegemer fra en sulfanilamidbehandlet patient blandedes med normalt plasma, blev opløsningen mørkere, end hvis samme mængde blodlegemer blandedes med samme mængde fysiologisk saltvand.
9. Hvis mørke blodlegemer fra en sulfanilamidbehandlet patient blandedes med plasma fra en sulfanilamidbehandlet patient, blev denne blanding mørkere, end hvis samme mængde blodlegemer blandedes med samme mængde plasma fra en normal person.

Blodet undersøgtes i disse forsøg ikke for met- eller sulfhæmoglobin.

Af forsøgene sluttedes, at den mørke farve af røde blodlegemer fra en sulfanilamidbehandlet ikke kunne skyldes sulfhæmoglobin, der er et stabilt stof, der ikke forsvinder ved vaskning eller dialyse. Det kunne ikke sikkert udelukkes, at den mørke farve skyldtes methæmoglobin, idet methæmoglobin dels kan omdannes til hæmoglobin og dels ændre farve på grund af pH-forskydning i basisk retning under de nævnte forsøgsbetingelser. Da de iagttagne farveændringer skete hurtigt, mente *Kallner* dog, at det var usandsynligt, at der var tale om methæmoglobin, som i almindelighed kræver en vis tid for at omdannes til hæmoglobin. At en pH-ændring skulle være årsag til farveændringen, ansås også for usandsynligt, idet farven var tydeligt mørkere, når de mørke blodlegemer blandedes med normalt plasma, end når de blandedes med fysiologisk saltvand, hvor pH måtte antages at være ens. *Kallner* mente således ikke, at den mørke farve kunne skyldes

met- eller sulfhæmoglobinæmi, men antog, at tilstedeværelsen af kuldioxyd var nødvendig for dens fremkomst. For at bekræfte sin teori udførte han en række spektrometriske forsøg.

Til disse forsøg anvendtes et *Hilger-Nutting* spektrofotometer. Der anvendtes ufortyndet blod. Blodet hæmolyseredes med saponin. Først centrifugeredes blodprøverne i centrifuge med 50.000 omdrejninger per minut i 30 minutter for at fjerne rester af de hæmolyserede blodlegemer. Resultaterne efter centrifugeringen var imidlertid upålidelige. Det er ikke nærmere oplyst, hvori unøjagtighederne bestod, men centrifugeringen blev opgivet, og de senere blodprøver anvendtes uden centrifugering. Der anvendtes heparinblod, som undersøgtes hurtigt efter blodtagningen. Blodet iltedes og måltes i 0.1 cm cuvette. Først undersøgtes, om sulfanilamid absorberede i den synlige del af spektret. Dette viste sig ikke at være tilfældet.

Det vistes, at der i blod fra sulfanilamidbehandlede var en øget absorption ved bølgelængderne 630, 623 og 617 mμ sammenlignet med normalt blod. Der fandtes intet karakteristisk absorptionsmaximum. Ved målingen af blod, der henstod 12 timer i luften, viste det sig, at den abnorme absorption i det røde aftog. Stod blodet derimod under paraffin, kunne der ikke påvises ændring i absorptionen efter 6 timers henstand. Rystedes blodet eller gennembobledes det med kvælstof, kom der et fald i absorptionen ved 630, 623 og 617 mμ. Ved fortynding kom der ligeledes en nedsættelse af absorptionen i det røde.

Da ændringerne også sås ved 623 mμ, hvor methæmoglobin har et isobestisk punkt, antog *Kallner,* at der ikke kunne være tale om methæmoglobin, der forandrer farve ved pH-ændringer. Et forsøg med arterielt blod udførtes. Det vistes, at ved udsættelse for luft, hvorved prøvens kuldioxyd afgaves, mindskedes absorptionen i det røde. Af disse forsøg sluttedes, at kuldioxyd spiller en vigtig rolle for fremkomsten af den mørke farve ved sulfanilamidindgift, enten ved at indgå i den farvede forbindelse eller ved at ændre opløsningens pH.

Ved gasometrisk analyse af blodet fra 12 sulfanilamidbehandlede patienter fandt *Kallner* kun methæmoglobin i 4 tilfælde og kun i det ene tilfælde i betydelig grad (7.5 pct.). Det vistes, at 2 pct. methæmoglobin bestemt ved gasometri gav netop synlig cyanose, og 3 pct. gav tydelig cyanose. Da metoden næppe gav større nøjagtighed end 2 pct., kunne man ikke på basis af de gasometriske analyser sikkert udelukke methæmoglobin som årsag til den iagttagne cyanose.

Undersøgelser af arterielt blod fra sulfanilamidbehandlede patienter viste, at dette havde samme iltmætning som hos normale, d. v. s. man kunne udelukke en mangelfuld iltmætning som årsag til cyanosen.

Kallner udførte en række forsøg in vitro med tilsætning af sulfanilamid

til blod fra normale forsøgspersoner. Han fandt, at når han satte sulfanilamid til venøst blod, som umiddelbart efter blodtagningen dækkedes af paraffinolie, kom der øget absorption ved 630, 623 og 617 mμ. Stod det venøse blod derimod i luften til iltning, før tilsætning af sulfanilamid fandt sted, kom der ingen ændring i absorptionen ved de nævnte bølgelængder.

Samme forsøg udførtes med arterielt blod, og samme resultat opnåedes. Dette viste, at farveændringen ikke beroede på tilstedeværelse af reduceret hæmoglobin.

Et forsøg med vaskede blodlegemer opslemmet i stødpude pH 7.28 udførtes på den måde, at der til et glas sattes sulfapyridin og til et andet sulfapyridin + kuldioxyd.

Man fandt, at absorptionen ved de sædvanlige 3 bølgelængder var størst i glas nr. 2, og at den øgede absorption igen svandt, når prøven rystedes i luft, hvorved kuldioxyden igen afgaves. Samme resultat fandtes, enten der brugtes sulfanilamid, sulfapyridin eller acetylsulfapyridin.

Kallner antog, at cyanosen efter indgift af acetanilid, anilin og phenacetin var af samme art som cyanosen ved sulfanilamidindgift, og udførte de samme forsøg in vitro som med sulfanilamid. Forsøgene gav samme resultat. Derimod kom der ikke nogen forandring i absorptionen, når han anvendte sulfanilsyre. Dette mente han skyldtes, at sulfanilsyren ikke som de andre stoffer, der har basekarakter, kunne indgå komplex forbindelse med carbhæmoglobinet.

På basis af de nævnte forsøg kom *Kallner* som nævnt til konklusionen, at kuldioxyd er en nødvendig forudsætning for, at blod kan blive abnormt mørkt ved indgift af sulfanilamid, anilin, acetanilid, phenacetin etc., og antog, at den mørke farve skyldes en komplex forbindelse mellem carbhæmoglobin og det indtagne stof.

Egne undersøgelser: Ved undersøgelse af blod fra en række patienter med cyanose efter indtagelse af forskellige medikamenter påvistes, som det senere skal beskrives, met- eller sulfhæmoglobin. Der påvistes cyanose selv ved små mængder met- og sulfhæmoglobin i blodet. Da man på basis af disse undersøgelser ikke kunne udelukke, at der ved siden af met- eller sulfhæmoglobin var andre mørktfarvede stoffer i blodet, der kunne bidrage til cyanosen, udførtes forsøg, der havde til hensigt at afgøre, om der i methæmoglobinholdigt blod kunne påvises andre stoffer, der bevirkede en abnorm absorption i den røde del af spektret. Til forsøgene anvendtes Beckman spektrofotometer. Blodet hæmolyseredes ved tilsætning af lidt saponin.

Da de cyanosefremkaldende stoffer kunne tænkes at være af flygtig natur og derved forsvinde ved fortynding af blodet i vand, søgte man først at foretage undersøgelserne på ufortyndet blod. Imidlertid var det ikke

Bølgelængde mμ	700	650	630	620	610	600	575
1. Normalt blod	0,155	0,201	0,222	0,233	0,252	0,276	0,796
2. Blod tilsat sulfapyridin	0,174	0,215	0,237	0,248	0,264	0,292	0,810
3. Forrige gennemboblet med CO_2	0,190	0,237	0,256	0,272	0,284	0,314	0,824
4. Forrige gennemboblet med O_2	0,215	0,272	0,292	0,310	0,323	0,362	0,839
5. Forrige efter cyanidtilsætning	0,204	0,276	0,301	0,314	0,342	0,382	0,839

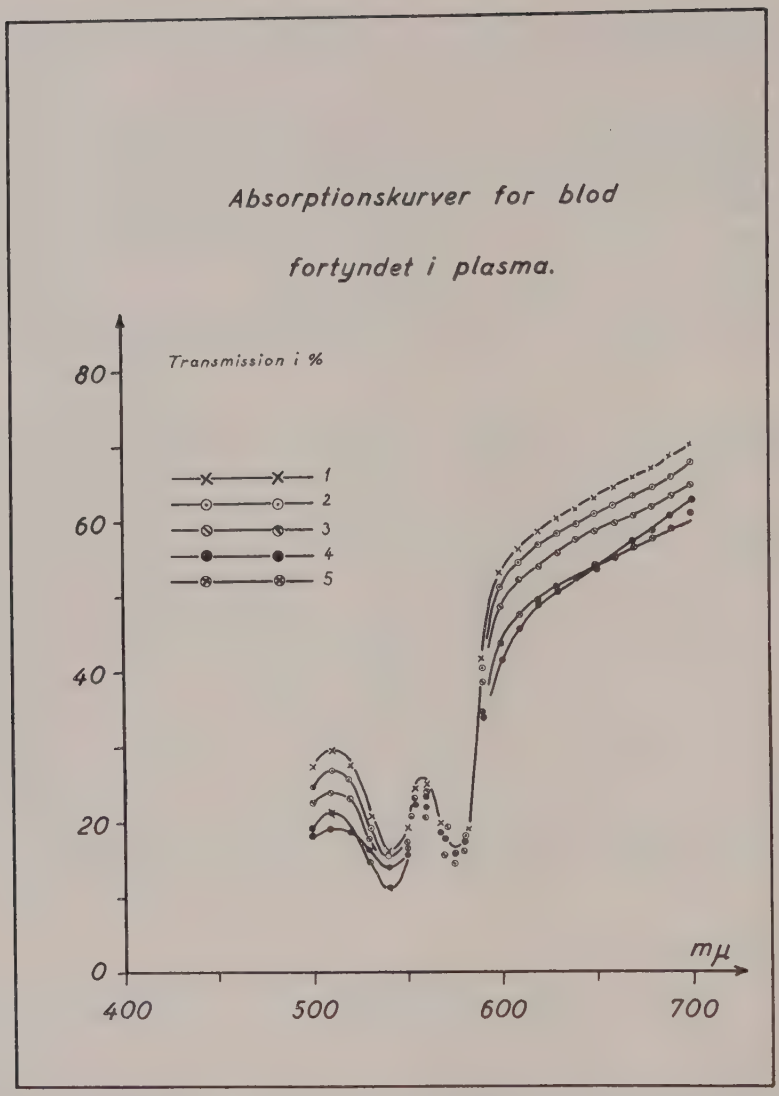
Tabel 10. Extinktioner for blod fortyndet 1/50 i plasma. Prøverne tilsat sulfapyridin og centrifugeret i centrifuge med 2000 omdrejninger per minut.

muligt at gennemføre måling på ufortyndet blod, da dette absorberede for stærkt til, at måling i de forhåndenværende cuvetter 1 cm, 0.5 cm og 0.2 cm lod sig gøre. I stedet udførtes målingerne på blod fortyndet i plasma og med plasma i blindcuvetten. Ved anvendelse af denne teknik mente man at have skabt forsøgsbetingelser, der mest muligt lignede betingelserne for undersøgelse af ufortyndet blod. Følgende forsøg blev udført for at undersøge, om man som angivet af *Kallner* kunne påvise en abnorm absorption i den røde del af spektret ved samtidig tilstedeværelse af kuldioxyd og sulfanilamid eller acetanilid i blodet. Der anvendtes venøst heparinblod fra en normal forsøgsperson. En del af dette blod centrifugeredes, og plasma afpipetteredes. Dette plasma anvendtes dels i blindcuvetten, dels til fortynding af blodet. Der anvendtes 0.5 cm dybe cuvetter, og blodet fortyndedes 1/50. På følgende prøver udførtes måling på spektrofotometret fra 700—500 mμ:

1. Blod uden tilsætning.
2. Blod tilsat sulfapyridin (1 spatelfuld til 5 ml blodfortynding).
3. Samme prøve som 2., men efter gennembobling med kuldioxyd i 2 minutter.
4. Forrige prøve efter yderligere 2 minutters gennembobling med ilt for atter at uddrive kuldioxydet.
5. Forrige prøve efter tilsætning af 1 dråbe neutraliseret natriumcyanid.

Prøverne centrifugeredes i 5 minutter inden målingen i centrifuge med 2000 omdrejninger per minut. I tabel 10 ses resultatet af dette forsøg. Figur 12 viser absorptionskurverne for de 5 opløsninger.

Det ses, at der ikke er nogen absorption, der tyder på tilstedeværelse af met- eller sulfhæmoglobin. Heller ikke cyanidtilsætningen ændrede absorptionen, sådan som den ville have gjort, hvis der havde været methæmo-



Figur 12. Absorptionskurver for blod fortyndet 1/50 i plasma. Kurve 1 normalt blod, 2 blod tilsat sulfapyridin, 3 = 2 efter gennembobling med kuldioxyd, 4 = 3 efter gennembobling med ilt og 5 = 4 efter tilsætning af natriumcyanid. Prøverne centrifugeret i centrifuge med 2000 omdrejninger per minut.

globin i opløsningen. Derimod medførte hver behandling af prøven en øget absorption i det røde. Ændringen i den øvrige del af spektret, hvor hæmoglobinets karakteristiske absorption gor sig gældende, var ringe og næppe påviselig.

I næste forsøg var forsøgsopstillingen den samme. Prøverne var:

Bølgelængde mμ	700	650	630	620	610	600	575
1. Normalt blod	0,022	0,027	0,036	0,054	0,076	0,167	..
2. Blod tilsat acetanilid	0,030	0,036	0,048	0,061	0,084	0,180	..
3. = 1. gennemboblet med CO_2	0,034	0,044	0,058	0,074	0,110	0,180	..
4. = 2. gennemboblet med CO_2	0,054	0,068	0,086	0,102	0,125	0,180	..
5. = 3. gennemboblet med O_2	0,044	0,058	0,076	0,086	0,119	0,180	..
6. = 4. gennemboblet med O_2	0,068	0,081	0,097	0,111	0,137	0,180	..

Tabel 11. Extinktioner for blod fortyndet 1/50 i plasma. Prøverne tilsat acetanilid og centrifugeret i centrifuge med 2000 omdrejninger per minut.

1. Blod uden tilsætning.
2. Blod tilsat acetanilid (1 spatelfuld acetanilid til 5 ml blodfortynding).
3. Samme som 1. efter gennembobling med kuldioxyd i 2 minutter.
4. Samme som 2. efter gennembobling med kuldioxyd i 2 minutter.
5. Samme som 3. efter gennembobling med ilt i 2 minutter.
6. Samme som 4. efter gennembobling med ilt i 2 minutter.

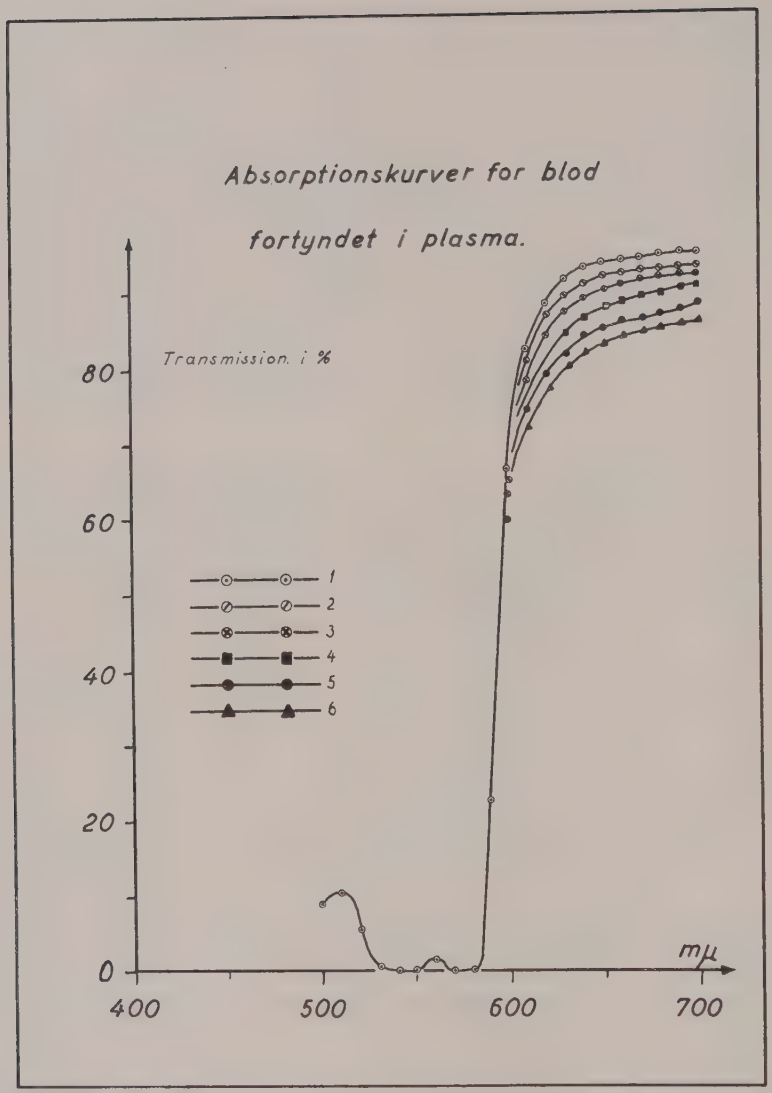
Resultaterne ses i tabel 11 og på figur 13. Også dette forsøg viste, at hver ny behandling gav øget absorption i den røde del af spektret. Ingen af kurverne viste karakteristiske absorptionsmaxima tydende på tilstedeværelse af met- eller sulfhæmoglobin.

Disse iagttagelser svarer til *Kallners* og viste, at tilsætning af sulfapyridin eller acetanilid til blodet bevirkede en øget absorption i det røde, og at mætning med kuldioxyd øgede absorptionen yderligere. Derimod lykkedes det ikke som i *Kallners* forsøg at få den øgede absorption til igen at svinde ved gennembobling med ilt og udluftning af kuldioxydet. Man formodede, at stigningen i absorption i det røde ved tilsætning af sulfapyridin og acetanilid samt ved gennembobling med kuldioxyd og ilt skyldtes, at det ikke var lykkedes at få tilstrækkelig klare opløsninger ved centrifugering i centrifuge med 2000 omdrejninger per minut.

I de følgende forsøg centrifugeredes prøverne før måling i spektrofotometret i 3 minutter i hurtiggående centrifuge med 17000 omdrejninger per minut, idet man derved håbede at få alle uklarheder centrifugeret bort. I blindcuvetten var som tidligere plasma. Blodet fortyndedes 1/50 i plasma, og der anvendtes 0.5 cm cuvetter.

Prøverne var:

1. Blodfortynding uden tilsætning.
2. Blodfortynding tilsat sulfanilamid (1 spatelfuld sulfanilamid til 5 ml blodfortynding).



Figur 13. Absorptionskurver for blod fortyndet 1/50 i plasma. Kurve 1 normalt blod, 2 blod tilsat acetanilid, 3 = 1 efter gennembobling med kuldioxyd, 4 = 2 efter gennembobling med kuldioxyd, 5 = 3 efter gennembobling med ilt og 6 = 4 efter gennembobling med ilt. Prøverne centrifugeret i centrifuge med 2000 omdrejninger per minut.

3. Samme som 1. efter kuldioxydgennembobling i 2 minutter.
4. Samme som 2. efter kuldioxydgennembobling i 2 minutter.

Resultaterne ses i tabel 12 (forsøgene 1—4) og på figur 14. Nøjagtigt samme forsøg udførtes med acetanilid i stedet for sulfanilamid. Resultaterne af dette forsøg ses også i tabel 12 (forsøgene 5—8) og på figur 15. Det ses,

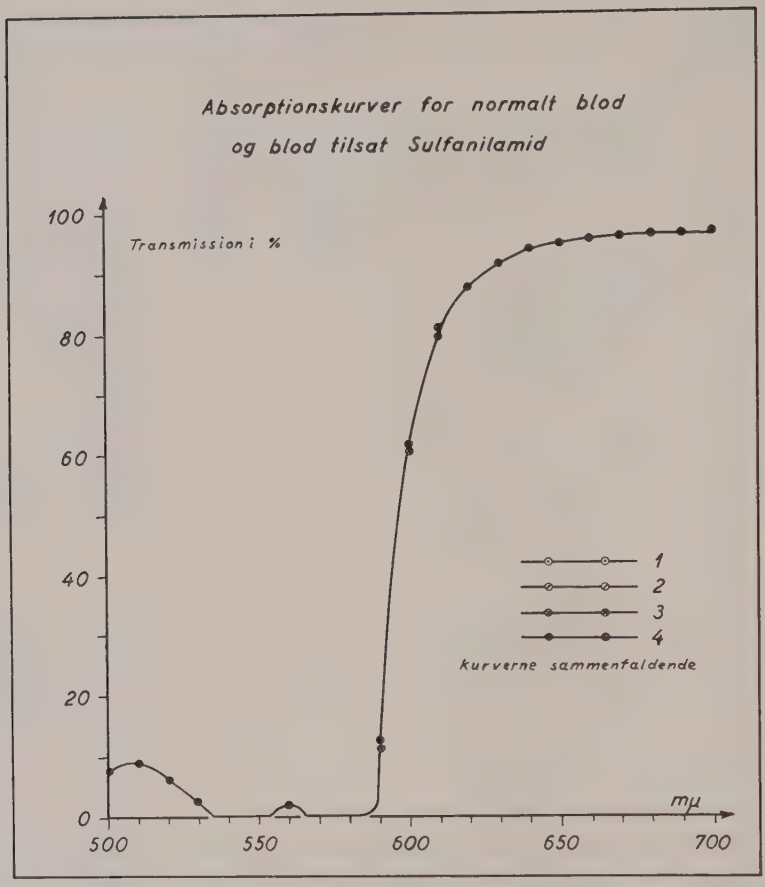
Bølgelængde mμ	700	650	630	620	610	600
1. Normalt blod	0,016	0,020	0,034	0,058	0,092	0,211
2. Blod tilsat sulfanilamid	0,016	0,020	0,034	0,058	0,092	0,211
3. = 1. gennemboblet med CO_2	0,016	0,020	0,034	0,058	0,099	0,218
4. = 2. gennemboblet med CO_2	0,016	0,020	0,034	0,058	0,099	0,218
5. Normalt blod	0,018	0,027	0,041	0,058	0,092	0,252
6. Blod + acetanilid	0,018	0,027	0,041	0,058	0,092	0,252
7. = 5. gennemboblet med CO_2	0,018	0,027	0,041	0,058	0,092	0,252
8. = 6. gennemboblet med CO_2	0,018	0,027	0,041	0,058	0,092	0,252
9. Normalt venøst blod dækket af parafinolie	0,013	0,018	0,046	0,076	0,161	0,426
10. Blod + sulfanilamid	0,013	0,018	0,046	0,076	0,161	0,426
11. Blod + acetanilid	0,013	0,018	0,046	0,076	0,161	0,426

Tabel 12. Extinktioner for blod fortyndet 1/50 i plasma. Prøverne tilsat sulfanilamid og centrifugeret i centrifuge med 17000 omdrejninger per minut.

at absorptionskurverne faldt sammen før og efter kuldioxydtilsætningen. Disse to forsøg viste, at ændringen i absorption i det røde, som var iagttaget i de to oprindelige forsøg under tilsætning af sulfapyridin og acetanilid og under gennembobling med kuldioxyd, kunne forklares ved uklarheder i opløsningerne. Disse uklarheder lod sig fjerne ved at centrifugere prøverne i den hurtiggående centrifuge.

Endelig udførtes et forsøg med venøst blod umiddelbart efter blodtagningen. Blodet dækkedes med paraffinolie og holdtes under paraffinolie under hele forsøget. Der anvendtes i dette forsøg 1/25 fortynding af blodet i plasma. Absorptionskurven mellem 700 og 600 mμ bestemtes på følgende prøver: blod uden tilsætning, blod tilsat sulfanilamid og blod tilsat acetanilid. Som det ses af tabel 12 (forsøgene 9—11) og figur 16, kom der under disse forhold, hvor blodet måtte antages at være kuldioxydrigt, heller ingen ændring i absorptionskurven ved tilsætning af sulfanilamid eller acetanilid.

I disse forsøg, hvor der anvendtes grundig centrifugering i hurtigcentrifuge, lykkedes det ikke at påvise nogen øget absorption i det røde ved sulfanilamid- eller acetanilidtilsætning. Heller ikke gennembobling med kuldioxyd, hvorved der opnåedes højt kuldioxydindhold i prøverne, ændrede absorptionen i det røde. I forsøget med frisktaget venøst blod var der ligeledes højt kuldioxydindhold i prøverne, men heller ikke i dette forsøg kom der ændring af absorptionen. Med den her anvendte teknik var det således ikke muligt at genfinde *Kallners* resultater. Årsagen til den observerede øgede absorption i den røde del af spektret i de første forsøg har antagelig



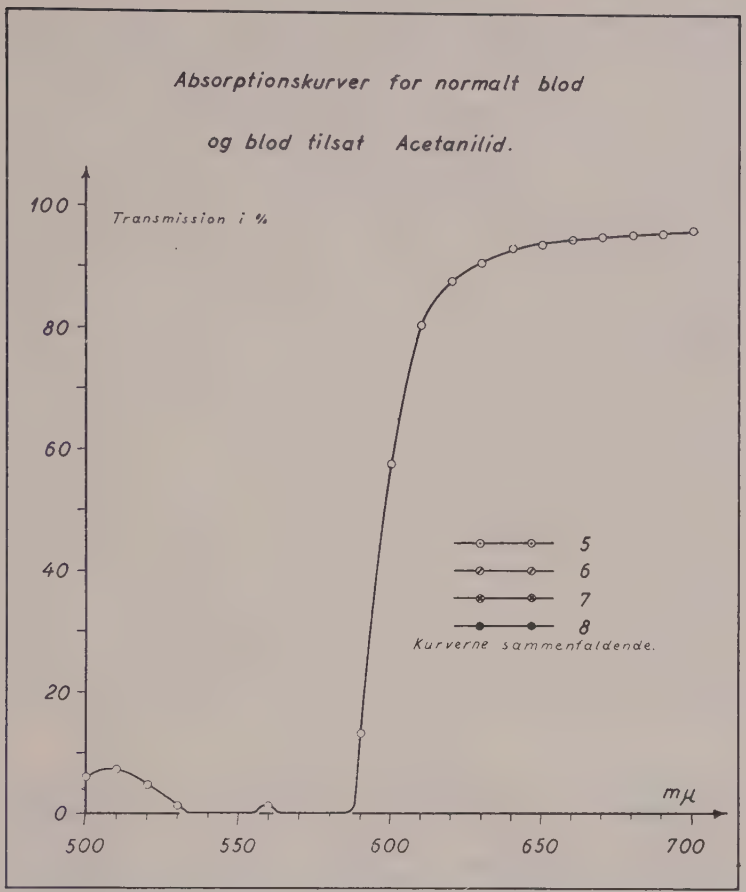
Figur 14. Absorptionskurver for blod fortyndet 1/50 i plasma. Kurve 1 normalt blod, 2 blod tilsat sulfanilamid, 3 = 1 efter gennembobling med kuldioxyd og 4 = 2 efter gennembobling med kuldioxyd. Prøverne centrifugeret i centrifuge med 17000 omdrejninger per minut.

været uklarheder fremkaldt ved tilsætning af sulfapyridin og acetanilid og ved gennemboblingen med kuldioxyd og ilt. Uklarhederne lod sig fjerne ved centrifugering i hurtiggående centrifuge.

For at undersøge, om der i methæmoglobinholdigt blod ved siden af methæmoglobinet fandtes en anden komponent, der kunne give anledning til abnorm absorption i det røde, udførtes følgende forsøg:

Blod fra en normal person hæmolyseredes, og 3 prøver henstilledes i 24 timer i ufortyndet tilstand. De 3 prøver var:

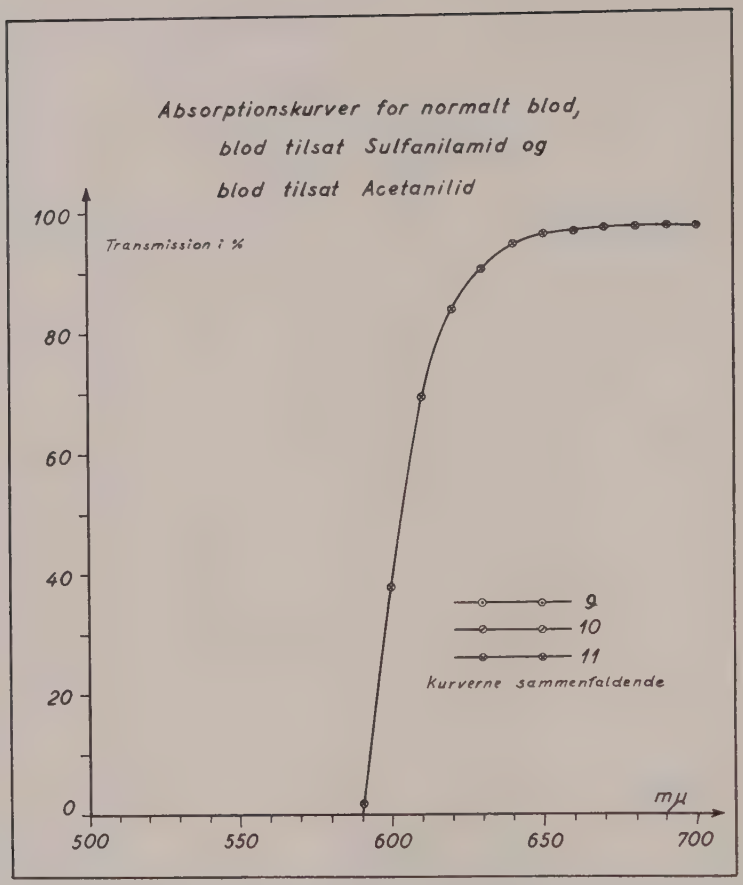
1. Blod uden tilsætning.
2. Blod tilsat sulfanilamid.
3. Blod tilsat acetanilid.



Figur 15. Absorptionskurver for blod fortyndet 1/50 i plasma. Kurve 5 normalt blod, 6 blod tilsat acetanilid, 7 = 5 efter gennembobling med kuldioxyd og 8 = 6 efter gennembobling med kuldioxyd. Prøverne centrifugeret i centrifuge med 17000 omdrejninger per minut.

Blodet var forundersøgt for methæmoglobin og indeholdt 0.3 pct. Efter de 24 timers forløb undersøgtes prøverne på sædvanlig måde for methæmoglobin. Resultatet var følgende: I første prøve fandtes 4.8 pct. methæmoglobin, i anden 5.2 pct. methæmoglobin og i tredje 19.9 pct. methæmoglobin. Der var således ingen tydelig forskel på methæmoglobinindholdet i blindprøven og i sulfanilamidprøven, men der var ingen tvivl om, at acetanilid havde bevirket en betydelig methæmoglobindannelse. Der skete ingen sulfhæmoglobindannelse.

Af særlig gode methæmoglobindannere undersøgtes paraaminofenol og chloranilin. Det viste sig, at tilsætning af 0.1 g paraaminofenol til 5 ml blod dannede rigelige mængder methæmoglobin. Ved undersøgelse af prøven 20 minutter efter tilsætningen fandtes 57.9 pct. methæmoglobin. Tilsætning



Figur 16. Absorptionskurver for blod fortyndet 1/25 i plasma. Blodet dækket af paraffinolie under forsøget. Kurve 9 normalt blod, 10 blod tilsat sulfanilamid og 11 blod tilsat acetanilid. Prøverne centrifugeret i centrifuge med 17000 omdrejninger per minut.

af en spatelfuld chloranilin til 5 ml blod gav efter 24 timers henstand 30.7 pct. methæmoglobin.

I de hidtidige forsøg var det ikke lykkedes at finde anden årsag til abnorm absorption i den røde del af spektret efter behandling af blodet med sulfanilamid, acetanilid, paraaminofenol og chloranilin end methæmoglobindannelse. Da det stadig kunne tænkes, at der foruden methæmoglobin var andre mørktfarvede stoffer, som kunne medvirke til den abnorme absorption i den røde del af spektret efter behandling af blodet med chloranilin, udførtes forsøg, hvor man undersøgte, om methæmoglobindannelsen alene var i stand til at forklare de iagttagne absorptionsændringer. Til disse forsøg fremstilledes blodprøver med varierende methæmoglobinindhold ved tilsætning af varierende mængder chloranilin til blodet. Absorptionskurver-

Bølgelængde mμ	700	650	630	620	610	600	575
Total 18,2 vol.pct. met. 35,2 pct.	0,044	0,084	0,128	0,128	0,131	0,167	1,222
Beregnet værdi	0,018	0,071	0,140	0,128	0,125	0,155	0,886
Total 16,8 vol.pct. met. 43,0 pct.	0,009	0,076	0,155	0,143	0,140	0,164	0,678
Beregnet værdi	0,013	0,076	0,155	0,143	0,137	0,164	0,710
Total 16,8 vol.pct. met. 11,5 pct.	0,013	0,022	0,041	0,041	0,056	0,097	1,097
Beregnet værdi	0,011	0,032	0,061	0,061	0,071	0,108	1,000
Total 17,2 vol.pct. met. 11,3 pct.	0,009	0,022	0,041	0,048	0,058	0,097	1,301
Beregnet værdi	0,009	0,027	0,041	0,048	0,071	0,114	1,046
Total 12,0 vol.pct. met. 21,0 pct.	0,009	0,032	0,064	0,066	0,071	0,092	0,898
Beregnet værdi	0,009	0,034	0,064	0,064	0,066	0,092	0,658
Total 15,0 vol.pct. met. 52,0 pct.	0,027	0,092	0,167	0,164	0,161	0,174	0,658
Beregnet værdi	0,015	0,092	0,158	0,143	0,131	0,149	0,593
Total 15,0 vol.pct. met. 9,3 pct.	0,020	0,024	0,038	0,041	0,051	0,089	1,125
Beregnet værdi	0,011	0,024	0,046	0,051	0,058	0,092	0,921
Total 15,0 vol.pct. met. 53,0 pct.	0,029	0,092	0,167	0,155	0,155	0,170	0,745
Beregnet værdi	0,013	0,092	0,167	0,149	0,134	0,145	0,585

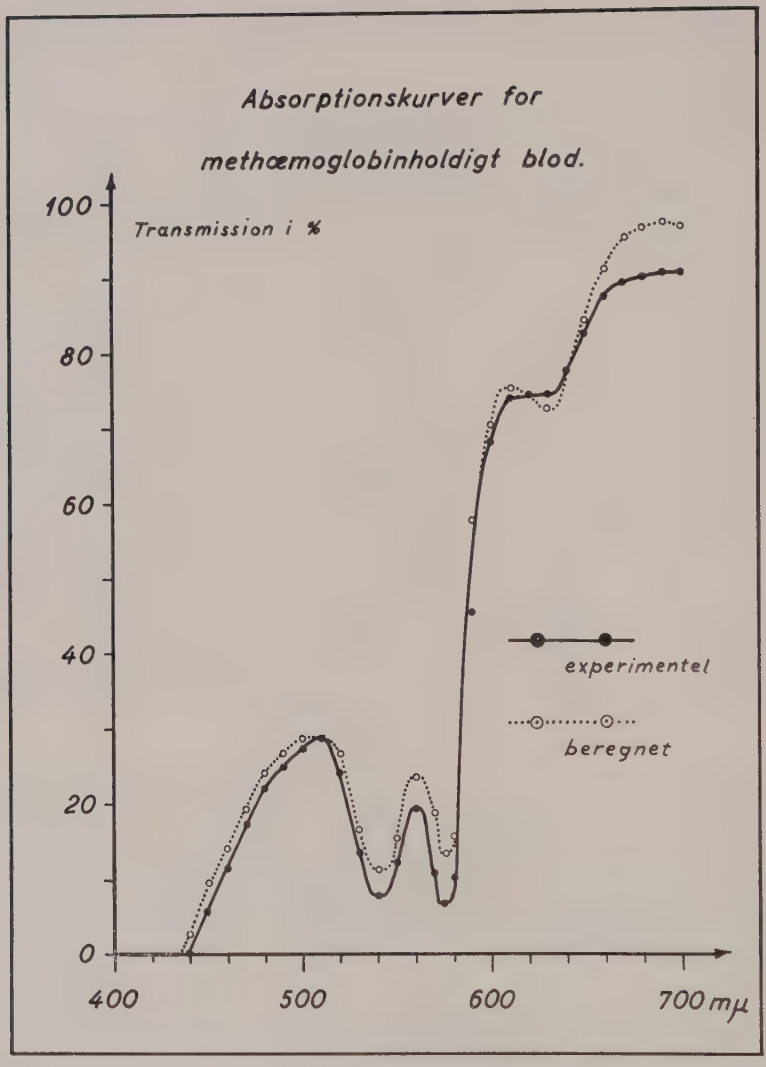
Tabel 13. Målte og beregnede extinktioner for blodfortyndinger indeholdende oxyhæmoglobin og methæmoglobin.

ne for disse prøver i fortynding 1/100 i stødpude pH 7.0 optegnedes mellem 700 og 500 mμ. Methæmoglobinindholdet i hver prøve bestemtes på sædvanlig måde. Blodets totalkapacitet var i forvejen bestemt. På basis af de kendte absorptionskonstanter for methæmoglobin beregnedes for hver prøve den teoretiske absorptionskurve under forudsætning af, at prøverne kun indeholdt methæmoglobin og oxyhæmoglobin.

Som det ses af tabel 13 og figur 17—22 svarede de beregnede kurver i deres forløb til de observerede. Kurverne på figur 18 og 20 faldt næsten fuldstændig sammen, medens kurverne på figur 17, 19, 21 og 22 ikke helt dækkede hinanden. Kurveforløbet svarede dog i alle tilfælde til en blanding af oxyhæmoglobin og methæmoglobin. Tilstedeværelsen af methæmoglobin kunne således forklare den iagttagne ændrede absorption. De fejl, methæmoglobinbestemmelserne er behæftet med, kan forklare, at de observerede og de beregnede kurver ikke faldt fuldstændig sammen i alle forsøg.

Disse forsøg viser, at det er lidet sandsynligt, at der i de undersøgte blodprøver var andre stoffer end methæmoglobin, der var ansvarlige for absorptionsforøgelsen i den røde del af spektret.

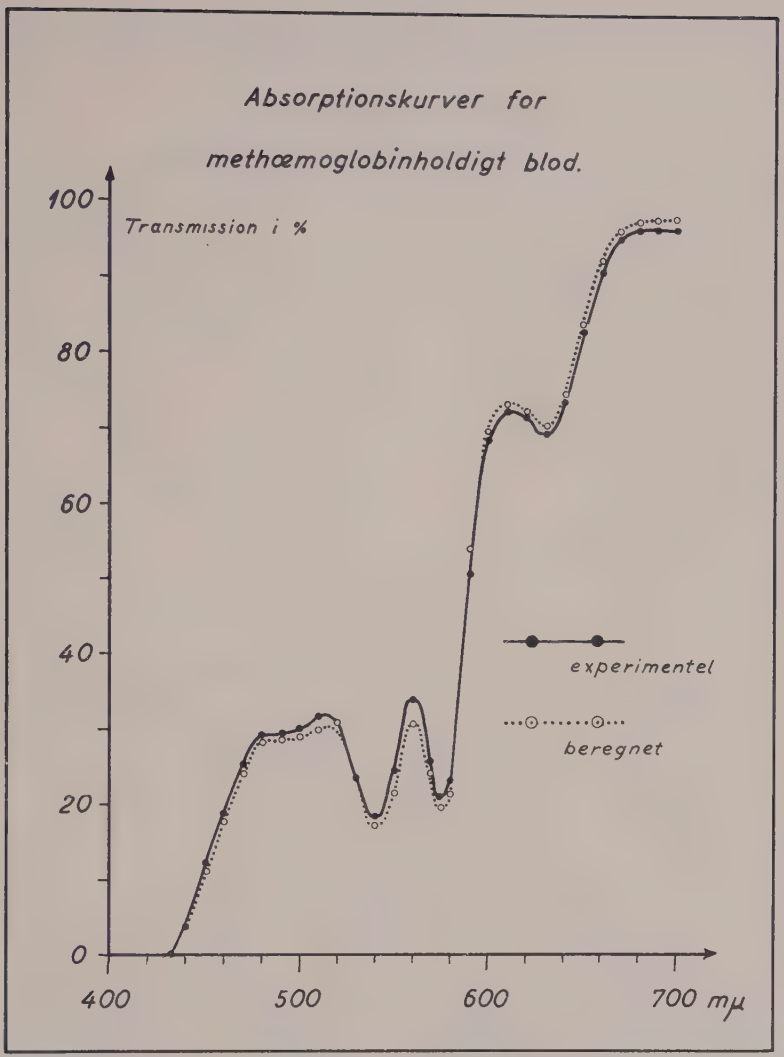
Medens disse forsøg udførtes, modtog laboratoriet patientblod til undersøgelse for methæmoglobin. Dette blod indeholdt 8.5 pct. methæmoglobin.



Figur 17. Experimentel og beregnet absorptionskurve for blod med et methæmoglobinindhold på 35,2 pct. af totalhæmoglobin. Totalkapacitet 18,2 vol. pct. Blodet fortyndet 1/100 i stødpude pH 7,0.

Absorptionskurven for prøven fortyndet 1/100 i stødpude pH 7.0 optegnedes. Derefter beregnedes en teoretisk kurve under forudsætning af, at prøven kun indeholdt met- og oxyhæmoglobin. Som det ses af kurverne (figur 23), var der fuldstændig overensstemmelse mellem de to kurver. Dette tyder på, at der heller ikke i patientblodet var anden abnormt absorberende bestanddel end methæmoglobin.

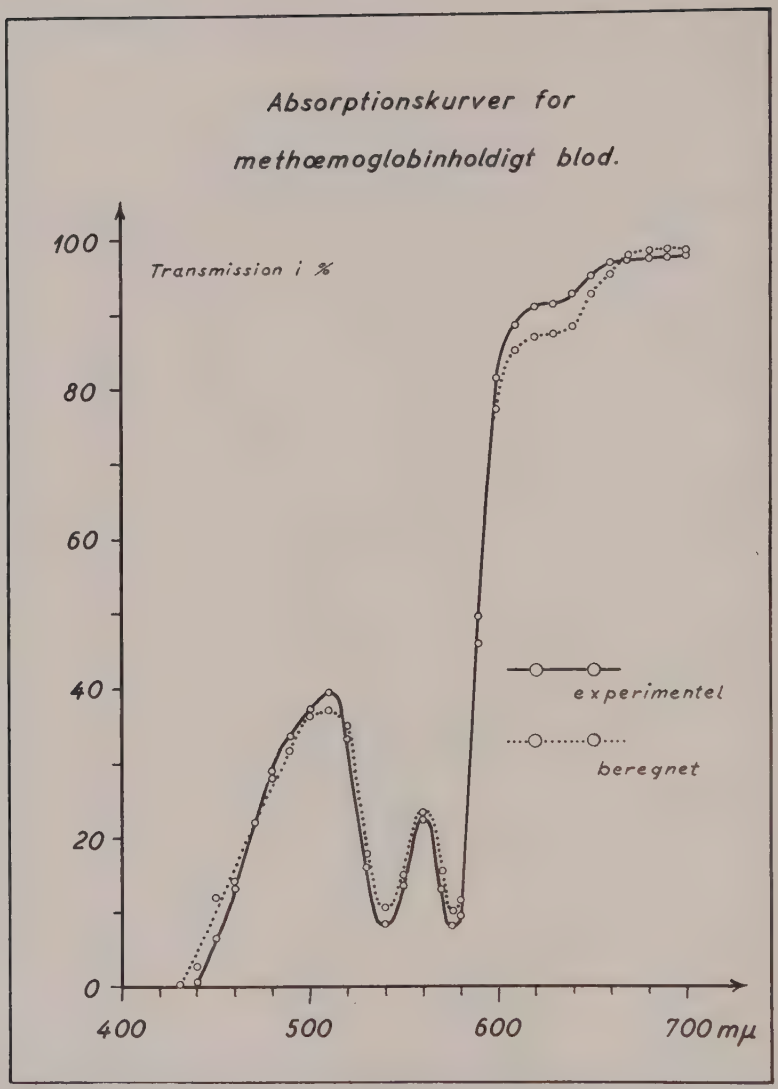
På dette patientblod udførtes endvidere følgende forsøg. Blodet hæmo-



Figur 18. Experimentel og beregnet absorptionskurve for blod med et methæmoglobinindhold på 43 pct. af totalhæmoglobin. Totalkapacitet 16,8 vol. pct. Blodet fortyndet 1/100 i stødpude pH 7,0.

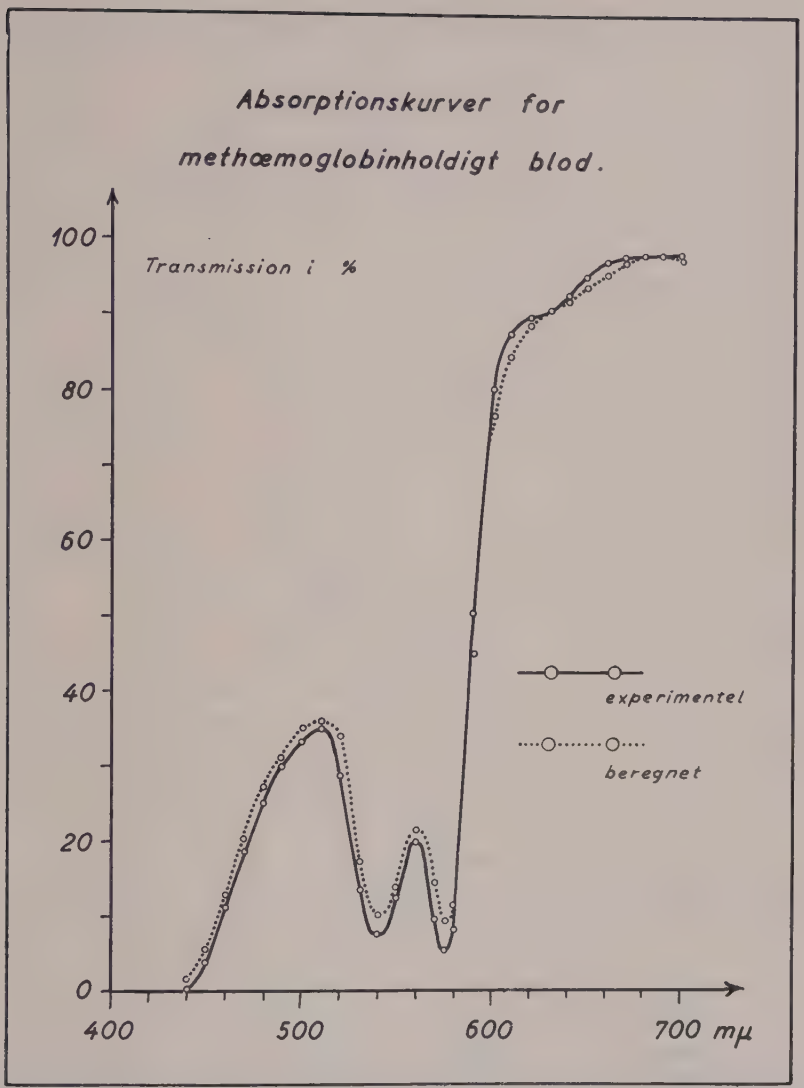
lyseredes med saponin og fortyndedes 1/200 i plasma og aflæstes overfor plasma i blindcuvetten. Absorptionskurven optegnedes, og den teoretiske kurve beregnedes. Figur 24 viser, at kurverne faldt sammen. Ved denne teknik skulle et eventuelt carbhæmoglobinkomplex have vist sig, men forsøget tydede på, at prøven kun indeholdt methæmoglobin.

1926 fremsatte *Young og Wilson* den teori, at årsagen til fremkomst af cyanose efter acetanilid er dannelse af paraaminofenol, hvis iltningsprodukt-



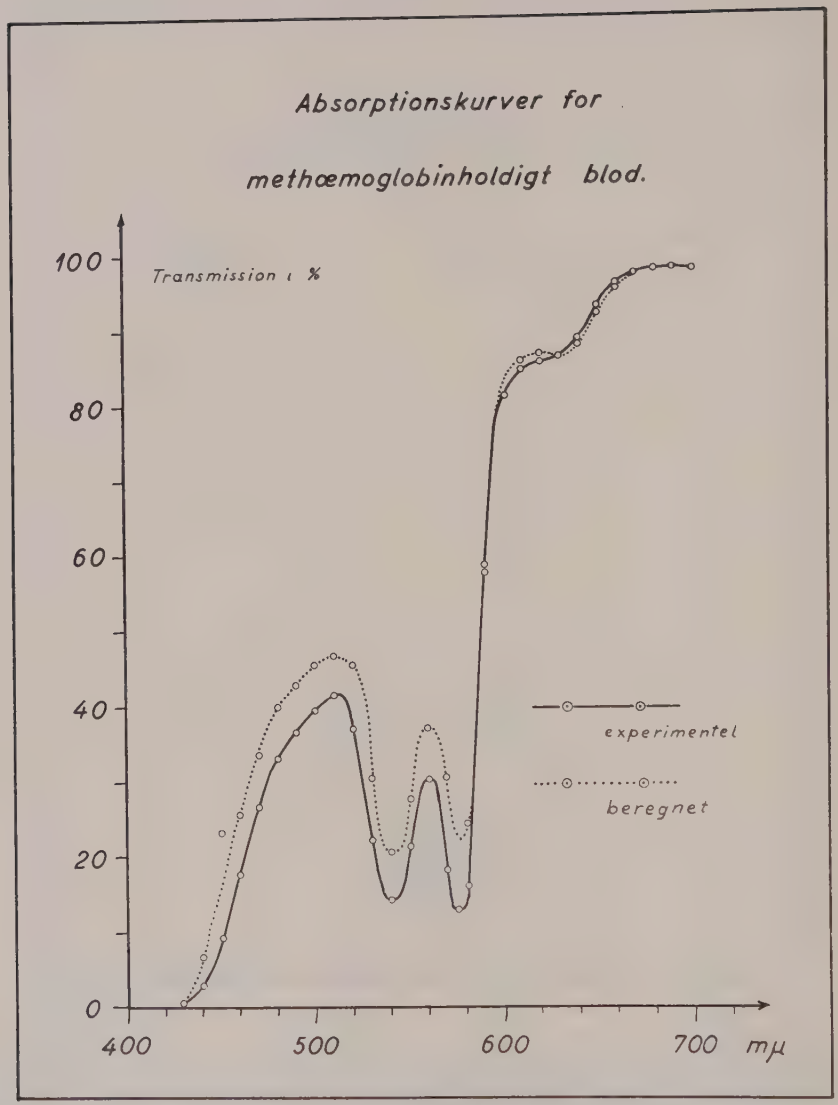
Figur 19. Experimentel og beregnet absorptionskurve for blod med et methæmoglobinindhold på 11,5 pct. af totalhæmoglobin. Totalkapacitet 16,8 vol. pct. Blodet fortyndet 1/100 i stødpude pH 7,0.

ter giver blodet en mørk farve. *Lundsteen, Meulengracht* og *Richel* (1937) og *Meulengracht og Lundsteen* (1940) hævdede ligeledes, at den væsentligste årsag til cyanose ved chronisk acetanilidforgiftning er paraaminofenol, medens samtidig methæmoglobinæmi kun tildels er ansvarlig for cyanosen. Disse forfattere iagttog cyanose hos 10 patienter som følge af indtagelse af »blandede hovedpinepulvere«. Det ene tilfælde var særligt grelt. Det drejede



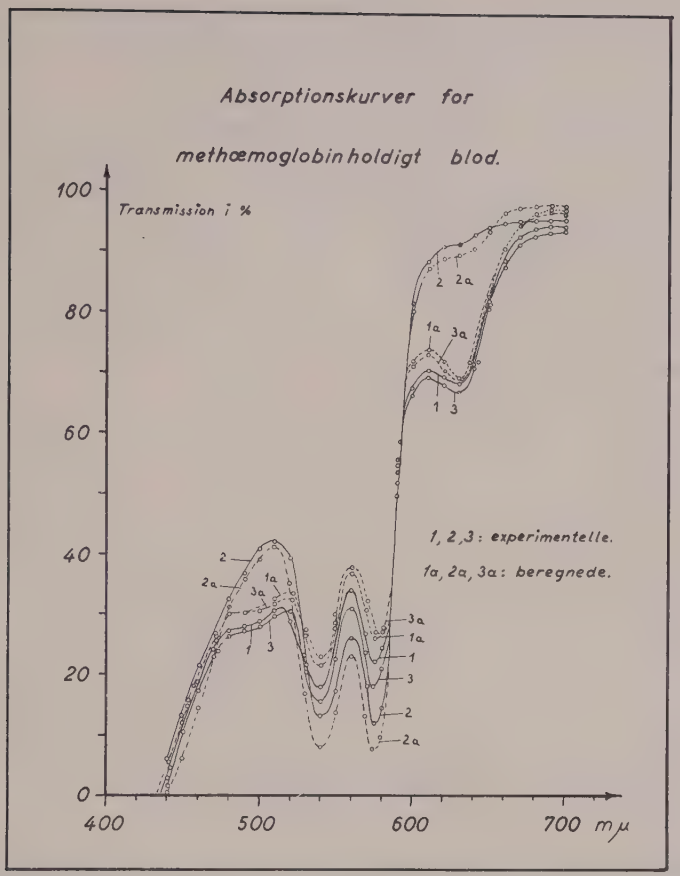
Figur 20. Experimentel og beregnet absorptionskurve for blod med et methæmoglobinindhold på 11,3 pct. af totalhæmoglobin. Totalkapacitet 17,2 vol. pct. Blodet fortyndet 1/100 i stødpude pH 7,0.

sig om en 34-årig kvinde, som indlagdes stærkt cyanotisk i hospitalet. Det klarlagdes, at hun havde indtaget rigelige mængder blandede hovedpinepulvere og cephatyltabletter. Hendes blod blev grundigt undersøgt. Gasometri viste, at hendes blod indeholdt knapt 20 pct. inaktivt hæmoglobin, der identificeredes som methæmoglobin. At blodets mørke farve ikke alene kunne skyldes methæmoglobin, vistes på følgende måde: Blodet fortyndedes



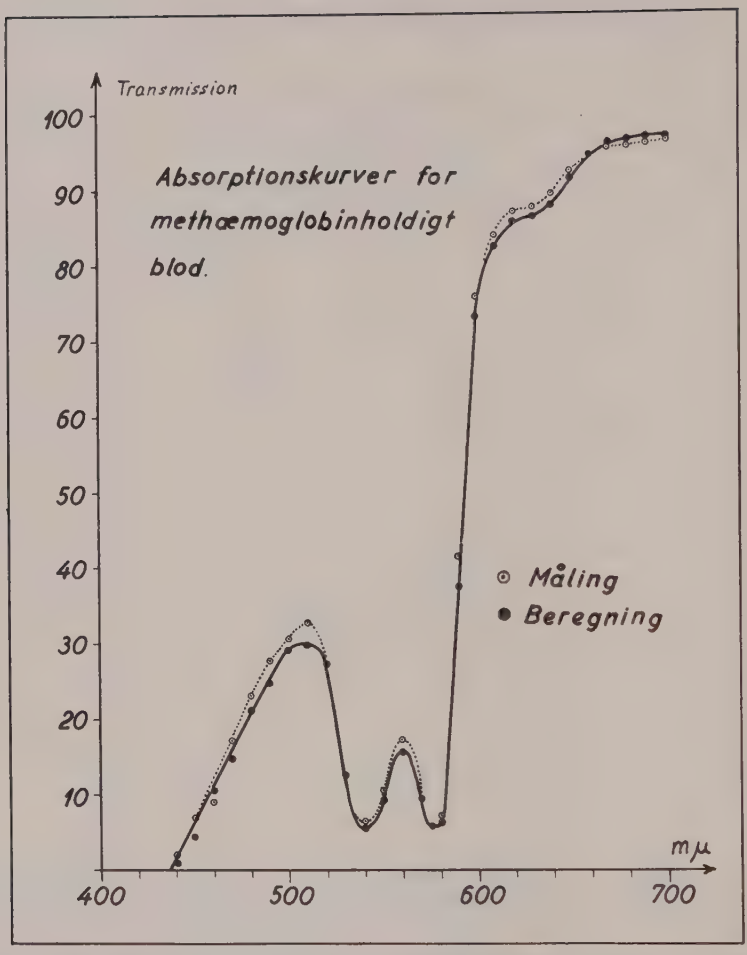
Figur 21. Experimentel og beregnet absorptionskurve for blod med et methæmoglobinindhold på 21 pct. af totalhæmoglobin. Totalkapacitet 12,0 vol. pct. Blodet fortyndet 1/100 i stødpude pH 7,0.

1/50 med vand. Tilsætning af 3 pct. kaliumferricyanid omdannede al hæmoglobin til methæmoglobin. Ved efterfølgende tilsætning af 3 pct. kaliumcyanid fremkom ikke som normalt en højrød farve, men en mørk blårød farve, hvilket viste, at der ved siden af methæmoglobin måtte være



Figur 22. 3 experimentelle og 3 beregnede absorptionskurver for blod med et methæmoglobinindhold på henholdsvis 52, 9,3 og 53 pct. af totalhæmoglobin. Totalkapacitet 15,0 vol. pct. Blodet fortyndet 1/100 i stødpude pH 7,0.

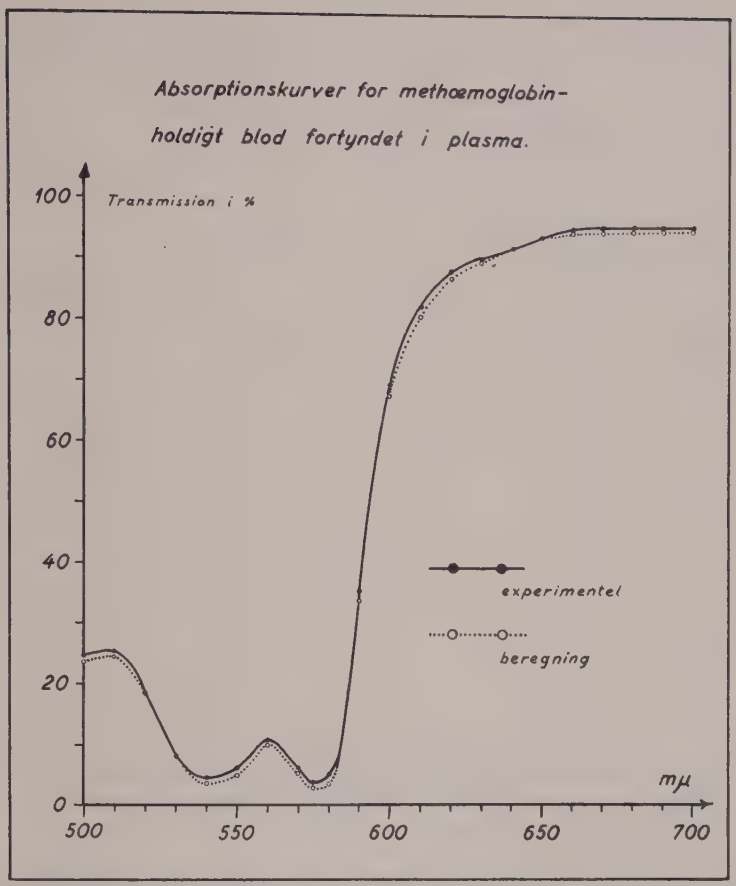
et fremmet farvestof. Blodlegemer og plasma undersøgtes derefter hver for sig. Plasmaet havde normal farve, medens blodlegemerne havde en abnorm mørk farve. En opløsning af blodlegemer gjordes sur ved tilsætning af svovlsyre, hvorefter proteinstofferne fældedes med 96 pct. alkohol. Proteinstofferne frafiltreredes, og det alkoholiske filtrat inddampedes. Tilbage blev et tungtopløseligt mørkt stof, som antoges at være et iltningsprodukt af paraaminofenol. Dette gav ikke indofenolreaktion. Urinen fra denne patient blev mørkere ved henstand og gav indofenolreaktion. Kontrolforsøg med blod fra et sundt individ viste, at tilsætning af paraaminofenol bevirkede, at blodet ved henstand antog samme mørke farve som blodet fra den omtalte patient. Herefter konkluderedes, at cyanosen ved acet-



Figur 23. Experimentel og beregnet absorptionskurve for blod fra en patient med methæmoglobinæmi. Methæmoglobinindhold 8,5 pct. af totalhæmoglobin. Totalkapacitet 21,1 vol. pct. Blodet fortyndet 1/100 i stødpude pH 7,0.

anilidforgiftning først og fremmest skyldes paraaminofenol, som trænger ind i blodlegemerne, hvor det iltes og bindes fast. Samtidig bevirker det i nogen grad dannelse af methæmoglobin. Ophører acetanilidindgiften, aftager cyanosen langsomt, idet blodlegemerne længe er mørkt farvede af de iltede paraaminofenolderivater.

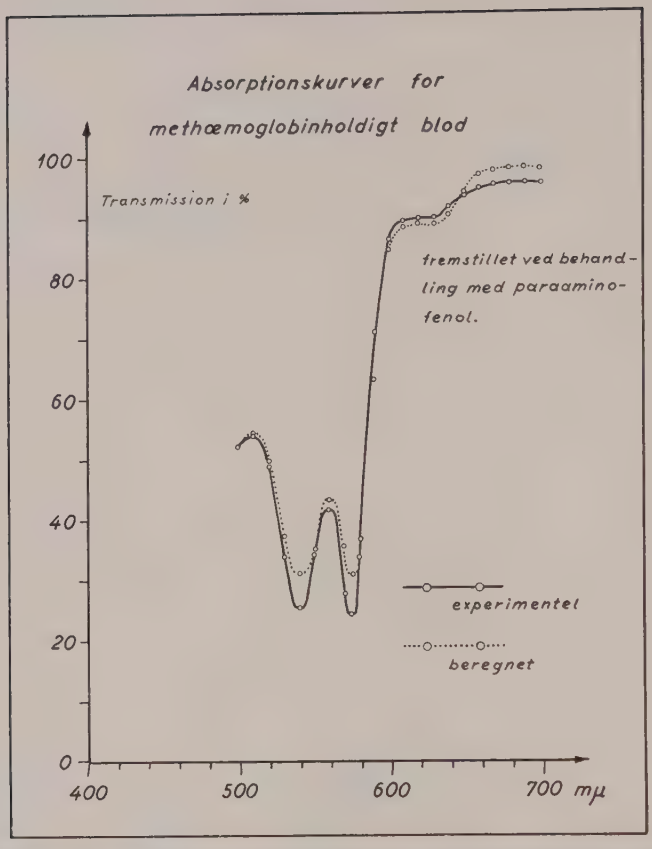
Egne iagttagelser: Som nævnt vistes det i in vitro forsøg, at tilsætning af paraaminofenol til blod bevirkede en kraftig methæmoglobindannelse. Af 5 ml blod, hvis totalkapacitet bestemtes til 20.3 volumenprocent fremstil-



Figur 24. Experimentel og beregnet absorptionskurve for blod fra en patient med methæmoglobinæmi. Methæmoglobinindhold 8,5 pct. af totalhæmoglobin. Totalkapacitet 21,1 vol. pct. Blodet fortyndet 1/200 i plasma.

ledes methæmoglobinholdigt blod ved tilsætning af 0.01 g paraaminofenol. Der dannedes herved methæmoglobin med en iltkapacitet på 4.0 volumenprocent. Absorptionskurven for det methæmoglobinholdige blod i fortynding 1/200 pH 7.0 optegnedes mellem 700 og 500 mμ. Derefter beregnedes og optegnedes den teoretiske kurve under forudsætning af, at prøven kun indeholdt methæmoglobin og oxyhæmoglobin. Som det ses af tabel 14 og figur 25, faldt de to kurver praktisk talt sammen. Dette viste, at den abnorme absorption i det røde skyldtes methæmoglobin. En eventuel farveændring på grund af paraaminofenolderivater kan efter dette forsøg kun spille en minimal rolle sammenlignet med methæmoglobinet.

Forsøg af samme art som de skildrede med beregning af teoretiske kur-



Figur 25. Experimentel og beregnet absorptionskurve for blod behandlet med paraaminofenol. Methæmoglobinindhold 19,7 pct. af totalhæmoglobin. Totalkapacitet 20,3 vol. pct. Blodet fortyndet 1/200 i stødpude pH 7,0.

ver for blandinger af sulfhæmoglobin og oxyhæmoglobin er ikke udført, da man udover den specifike extinktion ved 620 mμ ikke råder over tilstrækkelig nøjagtige absorptionskonstanter for sulfhæmoglobin til, at en teoretisk kurve lader sig beregne.

Det er i dette kapitel vist, at methæmoglobin er en væsentlig årsag til medicamentel cyanose. At sulfhæmoglobin også kan være årsag til medicamentel cyanose, skal vises i et senere kapitel.

I de foretagne forsøg var det ikke muligt at påvise anden årsag til cyanosen end tilstedeværelse af methæmoglobin i blodet. Samtidig har forsøgene vist, at methæmoglobinindholdet fuldt ud forklarer de iagttagne absorptionsændringer i den røde del af spektret.

Bølgelængde mμ	Målt værdi	Beregnet værdi
700	0,018	0,008
90	0,018	0,006
80	0,018	0,007
70	0,019	0,010
60	0,022	0,011
50	0,026	0,028
40	0,037	0,045
30	0,045	0,051
20	0,046	0,050
10	0,049	0,052
600	0,064	0,073
90	0,145	0,197
80	0,472	0,502
75	0,612	0,505
70	0,550	0,450
60	0,375	0,367
50	0,455	0,482
40	0,660	0,516
30	0,480	0,436
20	0,307	0,286
10	0,263	0,274
500	0,279	0,280

Tabel 14. Experimentelt fundne og beregnede extinktioner for blod behandlet med paraaminofenol. Fortynding 1/200 pH 7,0.

6. kapitel

HUMANE FORSØG MED METHÆMOGLOBIN- OG SULFHÆMOGLOBINDANNENDE STOFFER

For at undersøge forholdene ved methæmoglobin- og sulfhæmoglobindannelsen i den menneskelige organisme udførtes en række humane forsøg. Inden disse forsøg udførtes undersøgelser for at afgøre, om der forekommer met- eller sulfhæmoglobin i blod fra normale personer. Som tidligere nævnt har der været delte meninger om, hvorvidt blod under normale forhold indeholder methæmoglobin eller ikke. Herhjemme fandt *Ammundsen* (1939) indtil 14 pct. methæmoglobin i normalt blod. *Ammundsen* anvendte gasometrisk teknik til bestemmelse af inaktivt hæmoglobin og regnede dette for at være identisk med methæmoglobin. *Ramsay* (1944) fandt ligeledes med gasometrisk teknik inaktivt hæmoglobin i blodet hos normale og angav, at der forekommer mere end 1.5 pct. inaktivt hæmoglobin. *Kallner* (1942) viste imidlertid som tidligere nævnt, at *Ammundsens* høje værdier antagelig kunne forklares ved, at der anvendtes for lavt kuliltetryk til kuliltemætningen af blodet, og med den ændrede gasometriske teknik fandt *Kallner og van Slyke og medarbejdere* (1946) intet inaktivt hæmoglobin i normalt blod.

De forskere, der har arbejdet med spektrometrisk teknik til methæmoglobinbestemmelse, er næsten alle enige om, at der ikke er methæmoglobin i blod fra normale, eller i hvert fald kun minimale mængder. Som nævnt fandt *Paul og Kemp* (1944) 0—0.5 pct., *Drabkin og Schmidt* (1945) mindre end 0.5 pct og *Heubner* (1940) gennemsnitlig 1.7 pct. methæmoglobin. En undtagelse er *Haveman og medarbejderes* (1939) resultater. De fandt indtil 8 pct. methæmoglobin hos normale. Ved gennemgang af litteraturen vedrørende sulfhæmoglobin fandtes intet tilfælde med forekomst af sulfhæmoglobin i normalt blod.

Egne resultater: Efter at have påvist overensstemmelse mellem den gasometriske methæmoglobinbestemmelsesteknik og den spektrofotometriske teknik med cyanidtilsætning til blodet udførtes en række methæmoglobinanalyser på normalt blod. Som normalt blod anvendtes dels blod fra raske

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Totalhæmoglobin pct.	94	105	91	90	109	113	80	99	93
Methæmoglobin pct.	0,3	0	0,6	0,3	0,8	1,0	0,5	0,3	0,7
Sulfhæmoglobin pct.	0	0	0	0	0	0,2	0,4	0	0,2

	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Totalhæmoglobin pct.	99	107	109	70	108	107	93	90	106
Methæmoglobin pct.	0,7	0,1	0,1	0	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1
Sulfhæmoglobin pct.	0	0,6	0	0,1	0	0	0	0	0

Tabel 15. Resultaterne af methæmoglobin- og sulfhæmoglobinanalyser på 18 blodprøver fra normale personer.

personer dels blod fra hospitalspatienter med lidelser, der ikke kunne tænkes at influere på blodets hæmoglobin. Til analyserne anvendtes heparinblod. Prøvernes totalhæmoglobinindhold bestemtes spektrofotometrisk efter reduktion med natriumditionit. Prøverne undersøgtes derefter for methæmoglobin med den spektrofotometriske cyanidteknik. Analyserne skete senest 4 timer efter blodtagningen. Resultaterne af 18 analyser ses i tabel 15. Methæmoglobinindholdet var i alle tilfælde under 1 pct. af standardhæmoglobin, i de fleste tilfælde endda under 0.5 pct. Man har således i blod fra normale personer påvist minimale mængder methæmoglobin, i denne forsøgsrække ikke over 1 pct. Man har i senere analyser regnet et methæmoglobinindhold på 2 pct. eller mere for patologisk.

På de samme 18 blodprøver foretoges analyse for sulfhæmoglobin med den beskrevne spektrofotometriske teknik. Resultaterne ses ligeledes i tabel 15. I 13 blodprøver bestemtes sulfhæmoglobinindholdet til 0 pct., i 5 prøver fandtes 0.1—0.6 pct. sulfhæmoglobin. Så små mængder er mindre end forsøgsfejlen og er næppe udtryk for tilstedeværelse af sulfhæmoglobin. På basis af disse analyser har man sluttet, at blod fra normale ikke indeholder sulfhæmoglobin.

Til experimentel fremkaldelse af met- og sulfhæmoglobinæmi anvendtes følgende stoffer:

1. 4-chloranilin.
2. 4-chloracetanilid.
3. 4-chlor-1-nitrobenzol.
4. 4-nitrophenetol.
5. Magniumsulfat.

	Alder	Stof og dosis	0	2 timer	4 timer	6 timer	8 timer	24 timer	total hgb.
			pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.
1	81	chloranilin 10 mg	2,3	13,8	3,7	..	2,9	1,4	86
2	64	chloracetanilid 50 mg	0,7	2,8	3,1	2,2	2,1	..	85
3	56	4-chlor-1-nitrobenzol 10 mg ..	0,2	1,1	..	..	0,6	..	82
4	81	nitrophenetol.....	0,6	0,4	..	0,3	..	..	85

Tabel 16. Methæmoglobindannelsen efter belastning med chloranilin, chloracetanilid, chlornitrobenzol og nitrophenetol.

Chloranilin, chloracetanilid, chlornitrobenzol og nitrophenetol til forsøgene stilledes velvilligst til rådighed af A/S Medicinalco.

Disse 4 stoffer anvendtes i tabletform. Der fremstilledes følgende tabletter:

1. Chloranilintabletter à 10 og 5 mg.
2. Chloracetanilidtabletter à 50 mg.
3. Chlornitrobenzoltabletter à 10 mg.
4. Nitrophenetoltabletter à 10 mg.

Magniumsulfat anvendtes i form af solutio magnesii sulfatis, der indeholder 20 pct. magniumsulfat.

Forsøgspersonerne var patienter indlagte på Bispebjerg hospitals afdeling B. Til forsøgene anvendtes patienter, der ikke i forvejen havde indtaget medikamenter, der kunne tænkes at have cyanosefremkaldende egenskaber. Endvidere undgik man patienter med blodsygdomme eller chroniske mavetarmsygdomme. De fleste patienter var ældre, hovedsagelig med arteriosclerotiske lidelser. I de følgende forsøg er totalhæmoglobin, methæmoglobin og sulfhæmoglobin opgivet i procent af standardhæmoglobin, hvor 100 pct. svarer til 19.8 volumenprocent ilt.

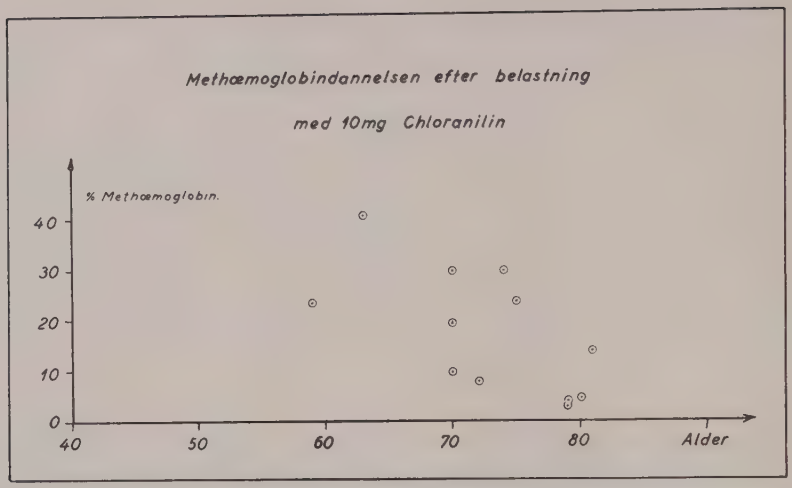
Det første forsøg havde til formål at afgøre, hvilket af de forhåndenværende stoffer, der var bedst egnet til at fremkalde methæmoglobinæmi. Der blev foretaget 4 forsøg. De 4 patienter fik henholdsvis 10 mg chloranilin, 50 mg chloracetanilid, 10 mg chlornitrobenzol og 10 mg nitrophenetol. Inden indgiften af stofferne foretoges undersøgelse for totalhæmoglobin, methæmoglobin og sulfhæmoglobin. Stofferne blev givet på et tidspunkt, hvor der var hengået mindst 4 timer siden sidste måltid. Der blev taget venøst heparinblod varierende tid efter tabletindtagelsen. Hver prøve undersøgtes for methæmoglobin og sulfhæmoglobin. Analyserne foretoges ca. 1/2 time efter blodtagningen. Resultaterne af forsøget ses i tabel 16. Det ses, at 10 mg chloranilin fremkaldte en betydelig methæmoglobinæmi,

	Alder	0	1½ time	2 timer	4 timer	6 timer	8 timer	24 timer	total-hgb.
		pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.
1	81	2,3	..	13,8	3,7	..	2,7	1,4	86
2	74	2,2	..	29,7	13,9	..	..	4,6	80
3	70	0,3	..	29,6	22,3	..	..	3,5	82
4	70	0,9	..	19,2	15,0	..	..	3,6	90
5	63	0,5	..	40,1	38,2	..	..	3,6	98
6	80	0	..	4,4	3,5	..	..	..	80
7	75	0,3	..	23,3	18,9	..	..	..	107
8	79	0,6	2,7	..	2,3	..	..	..	80
9	79	0,3	3,2	..	2,4	..	..	..	82
10	70	0,5	..	9,6	..	2,7	..	..	72
11	72	0,8	..	7,6	..	4,2	..	..	72
12	59	1,1	..	23,3	..	9,1	..	..	88

Tabel 17. Methæmoglobindannelsen efter belastning med 10 mg chloranilin.

der tabte sig i løbet af 1 døgn. Mindre effektiv som methæmoglobindanner var chloracetanilid, der dog i en dosis på 50 mg fremkaldte en påviselig dannelse af methæmoglobin. Chlornitrobenzol og nitrophenetol fremkaldte ingen påviselig methæmoglobinæmi i den anvendte dosering. Der påvistes ikke sulfhæmoglobin efter indgift af de 4 stoffer. Af de 4 undersøgte stoffer var chloranilin således den mest effektive methæmoglobindanner. I de følgende forsøg anvendtes udelukkende dette stof til frembringelse af methæmoglobinæmi.

Det næste forsøg udførtes for at klarlægge forholdene ved en acut methæmoglobinæmi. Der foretoges ialt 12 forsøg med indgift af 10 mg chloranilin. Som i forrige forsøg blev tabletterne indgivet på et tidspunkt, hvor der var gået ca. 4 timer siden sidste måltid. Før forsøget begyndte, foretoges undersøgelse for totalhæmoglobin, methæmoglobin og sulfhæmoglobin. Derefter toges venøst heparinblod forskellige tider efter indgiften (1½, 2, 4, 6, 8 og 24 timer). Prøverne undersøgtes for methæmoglobin og sulfhæmoglobin ½—1 time efter blodtagningen. Resultatet af forsøget ses i tabel 17. Det ses, at den største methæmoglobindannelse påvistes 1½—2 timer efter tabletindgiften. Allerede efter 4 timers forløb var methæmoglobinæmien ved at svinde, og 24 timer efter var den næsten svundet, men der var dog påviselige mængder tilbage, og patienterne var endnu cyanotiske. Den højeste methæmoglobinkoncentration, der påvistes, var 40.1 pct., de øvrige var mellem 2.7 og 29.7 pct. ved 1½—2 timers undersøgelsen. Alle patienterne var meget tydeligt cyanotiske med den karakteristiske kolde, gråblå cyanose. Cyanosen begyndte at udvikle sig ⅓—½ time efter chloranilinindgiften og tabte sig efter godt et døgn. Flere af patienterne klagede



Figur 26. Afhængigheden mellem methæmoglobindannelsen efter belastning med 10 mg chloranilin og forsøgspersonernes alder.

over mathed, svimmelhed og hovedpine. Der kom ingen alvorlige symptomer. Dog fik en 63-årig mand med angina pectoris anfald af præcordialsmerter og dyspnoe. Hos alle patienter svandt de subjektive symptomer på få timer. Senere kom der ingen gener efter forgiftningen. Der påvistes ikke sulfhæmoglobindannelse i disse forsøg.

Som det ses, var der stor individuel variation i den opnåede maximale methæmoglobinkoncentration. Da forsøgene udførtes på nøjagtig samme måde, kunne varierende forsøgsbetingelser ikke være ansvarlige for den påviste variation. Variationen fra patient til patient var desuden så stor, at der ikke kunne være tale om en simpel afhængighed af patienternes vægt.

På figur 26 er resultaterne af belastningsforsøgene med 10 mg chloranilin optegnet, således at alderen er afsat på abscissen og methæmoglobinprocenten på ordinaten. Det ses af figuren, at der var en ringe tendens til større methæmoglobindannelse hos de yngste af de anvendte forsøgspersoner. Man tænkte sig derfor muligheden af, at der var tale om en aldersvariation, hvor evnen til at danne methæmoglobin aftog med stigende alder. For at undersøge dette udførtes yderligere en række belastningsforsøg, hvor forskellige aldersklasser undersøgtes. Da der havde været de omtalte subjektive forgiftningssymptomer efter belastning med 10 mg chloranilin, anvendtes i dette forsøg indgift af 5 mg chloranilin til hver forsøgsperson. Forsøget udførtes på ialt 20 personer i alderen 31—78 år. Som i forrige forsøg blev der før tabletindgiften taget en blindprøve, som undersøgtes for totalhæmoglobin og methæmoglobin. 2 timer efter indgiften undersøgtes blodet igen for methæmoglobin. Resultatet af forsøget

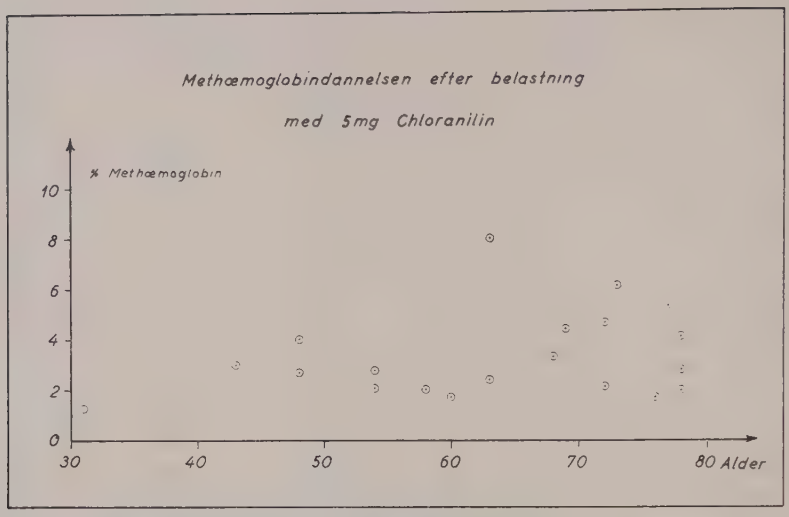
	Alder	Totalhgb.	Blindprøve	2-timers prøve
		pct.	pct.	pct.
1	78	92	1,5	5,1
2	78	84	1,1	2,0
3	78	94	0,9	2,8
4	77	110	0,6	5,3
5	76	88	0	1,7
6	73	100	0	6,1
7	72	98	0	4,7
8	72	98	1,1	2,1
9	69	93	0	4,4
10	68	75	1,0	3,3
11	63	97	0,3	2,4
12	63	100	0	8,0
13	60	110	0	1,7
14	58	97	1,2	2,0
15	54	62	1,3	2,8
16	54	90	0	2,1
17	48	95	0,4	2,7
18	48	90	0	4,0
19	43	103	0,4	3,0
20	31	100	0	1,3

Tabel 18. Methæmoglobindannelsen efter belastning med 5 mg chloranilin.

ses i tabel 18. Figur 27 viser resultaterne af belastning med 5 mg chloranilin i forhold til forsøgspersonernes alder. På abscissen er afsat forsøgspersonernes alder og på ordinaten methæmoglobinindholdet i procent. Det ses, at på basis af disse forsøg var det ikke muligt at påvise nogen aldersvariation.

Endelig tænkte man sig den mulighed, at de personer, der var særlig gode methæmoglobindannere, havde et abnormt indhold af »foetalt hæmoglobin« i deres blod. Som tidligere nævnt lader foetalt hæmoglobin sig særlig nemt omdanne til methæmoglobin. Blod fra de 4 personer, der havde dannet mest methæmoglobin, undersøgtes for foetalt hæmoglobin. Dette kunne dog ikke påvises, og foetalt hæmoglobin som årsag til variationerne i methæmoglobinkoncentrationerne kunne således lades ude af betragtning. Analyserne for foetalt hæmoglobin udførtes af *Kornerup*.

Det lykkedes ikke at finde årsagen til de fundne individuelle variationer i methæmoglobindannelsen. Som tidligere nævnt afhænger methæmoglobindannelsen i organismen af flere forhold. Dens størrelse afhænger dels af resorptionens omfang og hastighed, dels af eliminationshastigheden for det indgivne stof. Samtidig med methæmoglobindannelsen sker der i den normale organisme en reduktion af methæmoglobin til hæmoglobin ved en



Figur 27. Afhængigheden mellem methæmoglobindannelsen efter belastning med 5 mg chloranilin og forsøgspersonernes alder.

enzymatisk proces. Det er sandsynligt, at der er individuelle variationer i såvel resorptionshastighed og eliminationshastighed som i enzymernes effektivitet, og at disse variationer er årsagen til de iagttagne forskelle i methæmoglobindannelsen hos forskellige personer.

Efter forsøget med fremkaldelse af acut methæmoglobinæmi forsøgte man at fremkalde en chronisk methæmoglobinæmi på 2 forsøgspersoner. Forsøget udførtes på følgende måde: De 2 personer fik hver dag klokken 12 2½ mg chloranilin. Ved forsøgets begyndelse og de følgende dage blev der om formiddagen, d. v. s. 20—22 timer efter tabletindgiften taget blod til undersøgelse for methæmoglobin. Forsøgspersonerne blev tydeligt cyanotiske kort tid efter hvert tabletindtagelse. Næste formiddag var der kun svag cyanose at spore. Tabel 19 viser, at der kun var en ringe mængde methæmoglobin tilbage 20—22 timer efter forgiftningen. Dette forsøg viste, at en chronisk methæmoglobinæmi kun lod sig opretholde ved stadig chloranilinindgift, og at forgiftningen ophørte ca. 1 døgn efter sidste indgift.

I det følgende forsøg forsøgtes fremkaldelse af sulfhæmoglobinæmi. Forsøgets formål var at undersøge:

1. Om det var muligt at fremkalde sulfhæmoglobinæmi ved daglig indgift af magniumsulfat.
2. Om der kom en øget sulfhæmoglobindannelse ved samtidig indgift af magniumsulfat og chloranilin.

Ad 1. 3 personer fik daglig 10 g solutio magnesii sulfatis 3 gange. Ved forsøgets begyndelse foretoges undersøgelse for totalhæmoglobin, methæmo-

	Alder	Total hgb.	0	1. dag	2. dag	3. dag	4. dag	5. dag	7. dag	10. dag	13. dag
		pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.
1	81	86	2,3	7,4	2,6	3,8	1,3	..	1,7	3,7	6,2
2	74	70	1,9	2,5	..	0,4	2,0	0,7	1,8	2,2	..

Tabel 19. Resultatet af methæmoglobinbestemmelser på 2 personer, der dagligt fik 2,5 mg chloranilin.

globin og sulfhæmoglobin. Derefter toges blod til samme undersøgelse 2 gange ugentlig. Prøverne blev taget om formiddagen og undersøgt umiddelbart efter. Forsøget strakte sig over 5½ uge. I tabel 20 ses resultaterne af forsøget. Under magniumsulfatbehandlingen kom der efterhånden en ringe sulfhæmoglobindannelse, maximalt 3.5 pct. (forsøgsperson nr. 2). Forsøgspersonerne var ved forsøgets afslutning svagt cyanotiske.

Ad 2. 3 personer fik daglig 10 g solutio magnesii sulfatis 3 gange + 2½ mg chloranilin morgen og aften. Ved forsøgets begyndelse undersøgtes blod for totalhæmoglobin, methæmoglobin og sulfhæmoglobin. Derefter blev undersøgelsen gentaget 2 gange ugentlig. Forsøget strakte sig over 5½ uge. Hos de 2 personer måtte man ophøre med indgiften af magniumsulfat og chloranilin efter henholdsvis 2 og 3 uger, da der kom stærke diarrhoer. Resultaterne af forsøget ses i tabel 20. Som det var venteligt, kunne der påvises nogle få procent methæmoglobin. Det ses, at der i disse forsøg med samtidig indgift af magniumsulfat og chloranilin kom en betydelig rigeligere sulfhæmoglobindannelse end i forsøgene med indgift af magniumsulfat alene. Hos de 3 forsøgspersoner dannedes der maximalt 11.1, 8.1 og 7.0 pct. sulfhæmoglobin. Disse patienter var tydeligt cyanotiske. Hos forsøgspersonerne nr. 5 og nr. 6, hvor indgiften af magniumsulfat og chloranilin måtte opgives efter 2 og 3 uger, fortsattes blodprøvetagningen også igennem 5½ uge. Ved observationstidens slutning kunne endnu påvises cyanose og sulfhæmoglobinæmi hos disse 2 personer.

Resultaterne af disse forsøg svarer til de tidligere beskrevne fund af *Snapper* (1925), *Campbell og Morgan* (1939) og *Archer og Discombe* (1937). De viste, at indgift af svovl gav sulfhæmoglobinæmi, og at sulfhæmoglobindannelsen øgedes ved samtidig indgift af methæmoglobindannere som phenacetin (*Snapper* 1925) eller sulfanilamid (*Campbell og Morgan* (1939) og *Archer og Discombe* (1937)).

De her beskrevne forsøg viste, at langvarig indgift af magniumsulfat gav en ringe sulfhæmoglobinæmi, og at samtidig chloranilinindgift forstærkede sulfhæmoglobindannelsen betydeligt. Ved iagttagelse af forsøgspersonerne kunne svag cyanose konstateres ved ca. 2 pct. methæmoglobin- eller

	1. 53 år			2. 76 år			3. 64 år			4. 82 år			5. 87 år			6. 72 år		
	magnesium-sulfat			magnesium-sulfat			magnesium-sulfat			chloranilin + mg SO^4			chloranilin + mg SO^4			chloranilin + mg SO^4		
	tot. pct.	met. pct.	sulf. pct.	tot. pct.	met. pct.	sulf. pct.	tot. pct.	met. pct.	sulf. pct.	tot. pct.	met. pct.	sulf. pct.	tot. pct.	met. pct.	sulf. pct.	tot. pct.	met. pct.	sulf. pct.
0	78	0	1,0	87	0,7	0,5	72	0,6	2,0	92	0,6	0,5	97	0,5	0	91	1,8	2,0
1	78	0,8	1,0	88	1,1	5,0	78	3,4	0,5	94	0,8	3,0	94	0,7	0	..	..	..
2	98	1,2	0	91	1,8	3,0	76	1,0	1,0	94	2,4	10,1	91	2,1	2,0	95	1,4	3,5
3	74	0,8	0,5	90	0,7	0,5	71	0,8	2,0	72	1,3	6,0	96	1,5	6,5	81	1,9	5,0
4	82	0,6	1,0	92	0,7	0,5	72	1,5	1,5	93	2,3	9,1	91	1,4	8,1	..	..	..
5	78	1,0	3,0	89	1,1	3,5	74	0,9	2,0	91	1,1	7,0	82	1,5	3,5	90	3,5	6,0
6	..	..	..	86	1,1	1,0	71	1,2	3,0	91	1,6	11,1	78	5,9	4,5	79	2,7	7,0
7	..	..	..	82	1,9	2,5	..	..	..	85	2,6	8,6	80	4,0	4,5	89	4,0	6,0
8	..	..	..	86	3,9	3,5	..	..	..	93	1,8	8,5	72	3,2	3,0	88	1,6	4,5
9	..	..	..	81	4,0	2,5	..	..	..	87	0	9,0	76	3,8	4,5	82	4,3	3,5
10	..	..	..	81	3,7	3,0	..	..	..	79	2,2	7,5	74	3,8	3,0	86	4,7	3,0
11	..	..	..	83	3,8	2,5	..	..	..	78	1,2	7,0	..	..	..	79	2,3	2,5

Tabel 20. Resultaterne af undersøgelse for totalhæmoglobin, methæmoglobin og sulfhæmoglobin hos 3 personer, der har fået 10 g solutio magnesii sulfatis × 3, og hos 3 personer, der har fået 10 g solutio magnesii sulfatis × 3 + 2,5 mg chloranilin × 2 daglig gennem lang tid. Prøverne er taget 2 gange ugentlig.

		Alder	før behandling tot.-hgb.	methgb.	sulfhgb.	efter behandling tot.-hgb.	methgb.	sulfhgb.
			pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.
ikke aureomycinbeh.	1	59	65	0	0	68	0	2,9
	2	58	94	0	0	96	0	3,0
	3	79	95	0	0,3	96	0	1,3
aureomycinbeh.	4	72	91	0	0,5	91	0	1,2
	5	61	65	0	0,4	65	0	2,0
	6	86	86	0	0	85	0	0,7

Tabel 21. Totalhæmoglobin, methæmoglobin og sulfhæmoglobin før og efter 5 dages behandling med 10 g solutio magnesii sulfatis ×3 + 5 mg chloranilin × 2 daglig. De første 3 personer fik kun disse stoffer, de 3 sidste fik tillige 250 mg aureomycin ×4 daglig i de 5 dage.

2 pct. sulfhæmoglobinindhold i blodet. Med stigende indhold af met- eller sulfhæmoglobin i blodet tiltog cyanosens intensitet.

Som den første hævdede *van den Bergh* (1905), at sulfhæmoglobindannelse skyldes resorption af svovlbrinte fra tarmen, og at svovlbrinte efter resorption omdanner hæmoglobin til sulfhæmoglobin. *Snapper* (1922 og 1925) antog også, at sulfhæmoglobindannelsen skyldes resorption af svovlbrinte fra tarmen. Når indgift af rent svovl eller sulfat kunne fremkalde sulfhæmoglobinæmi, antog han, at det skyldes, at disse stoffer bevirker en øget svovlbrintedannelse i tarmen. Som tidligere beskrevet er dette den almindelige opfattelse. Methæmoglobindannerne acetanilid, phenacetin og sulfonamid antages at accellerere processen mellem hæmoglobin og svovlbrinte.

Hvis denne opfattelse er rigtig, måtte det være muligt at hindre sulfhæmoglobindannelse i organismen efter indtagelse af sulfat og chloranilin, hvis man kunne hindre dannelsen af svovlbrinte i tarmen. Da svovlbrinte dannes i tarmen ved bakteriernes indvirkning på føden, måtte opgaven være at udrydde disse bakterier. Til dette formål anvendtes i de følgende forsøg indgift af aureomycin. Forsøget omfattede 6 personer. Blod fra disse undersøgtes, inden forsøget startedes, for totalhæmoglobin, methæmoglobin og sulfhæmoglobin. De 3 personer fik derefter 10 g solutio magnesii sulfatis 3 gange daglig og 5 mg chloranilin 2 gange daglig i 5 dage. De 3 andre personer fik 250 mg aureomycin 4 gange daglig, 10 g solutio magnesii sulfatis 3 gange daglig og 5 mg chloranilin 2 gange daglig i 5 dage. Efter de 5 døgns behandling toges nye prøver til undersøgelse for totalhæmoglobin, methæmoglobin og sulfhæmoglobin. Resultaterne ses i tabel 21. Der kom tydelig cyanose hos de 3 personer, der ikke havde fået aureomycin, og der påvistes 1.3—3.0 pct. sulfhæmoglobin i blodet. Hos de 3 personer, der

			før behandling			efter behandling		
		Alder	tot.-hbg.	methgb.	sulfhgb.	tot.-hgb.	methgb.	sulfhgb.
			pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.
ikke aureomycinbeh.	1	59	65	0	0	68	0	2,9
	2	58	94	0	0	96	0	3,0
	3	79	95	0	0,3	96	0	1,3
	4	78	82	0	0	81	3,1	6,1
	5	79	81	0,7	0	82	2,8	4,1
	6	86	79	0	0	79	0	3,5
aureomycinbeh.	7	77	88	0	0	87	0,3	0
	8	72	59	0,4	0	62	3,0	1,0
	9	85	102	0	0	100	0	1,0
	10	75	71	0	0	72	1,4	0
	11	80	95	0	0	90	2,0	0
	12	78	66	0	0	63	0	1,0

Tabel 22. Totalhæmoglobin, methæmoglobin og sulfhæmoglobin før og efter behandling med 10 g solutio magnesii sulfatis ×3 + 5 mg chloranilin ×2 daglig i 5 dage. De første 6 personer fik kun denne behandling. De sidste 6 fik tillige 250 mg aureomycin ×4 daglig i 5 dage begyndende 2 døgn, før behandlingen med magniumsulfat og chloranilin indledtes.

havde fået aureomycin, sås ingen cyanose, men der påvistes dog små mængder sulfhæmoglobin (0.7—2.0 pct.). Man kunne ikke udelukke, at disse små mængder sulfhæmoglobin var dannet i forsøgets første dage, hvor der endnu måtte antages at være svovlbrinte i tarmen. Ved forsøgets begyndelse var tarmens bakterieflora urørt. Først efter 1—2 døgns aureomycinbehandling kunne bakteriefloraen antages at være udryddet, og først derefter kunne man regne med, at tarmen var svovlbrintefri.

Der udførtes derfor en ny række forsøg med en anden fremgangsmåde. 6 personer behandledes med 10 g solutio magnesii sulfatis 3 gange daglig og 5 mg chloranilin 2 gange daglig i 5 dage. Blodet undersøgtes for totalhæmoglobin, methæmoglobin og sulfhæmoglobin for og efter indgiften af stofferne. 6 andre personer fik aureomycin 250 mg 4 gange daglig i 5 dage. Fra tredje døgn, hvor man regnede med, at aureomycinet havde reduceret antallet af svovlbrintedannende bakterier til et minimum, begyndte man at give 10 g solutio magnesii sulfatis 3 gange daglig og 5 mg chloranilin 2 gange daglig. Dette blev givet i 5 dage, d. v. s. i 2 dage efter ophør af aureomycinindgiften. Ved forsøgets afslutning undersøgtes blodet for methæmoglobin og sulfhæmoglobin. Resultatet af dette forsøg ses i tabel 22. Dette viste, at uden aureomycinbehandling dannedes rigelige mængder sulfhæmoglobin. Ved aureomycinbehandling i 2 dage efterfulgt af behandling med magniumsulfat og chloranilin dannedes intet eller i hvert fald kun minimale mængder sulfhæmoglobin (0—1 pct.).

	Alder	tot.-hgb.	Dosis og stof	0-prøve	2-timers prøve før aureomycinbeh.	2-timers prøve efter 5 dg. aureomycinbeh.
		pct.		pct.	pct.	pct.
1	78	79	10 mg chloranilin	0,6	2,6	22,4
2	79	82	10 mg chloranilin	0,2	3,2	7,8
3	73	98	5 mg chloranilin	0	4,7	4,4
4	58	98	5 mg chloranilin	1,9	1,9	3,5
5	54	72	5 mg chloranilin	1,5	3,4	1,8

Tabel 23. Resultaterne af methæmoglobinbestemmelser efter belastning med chloranilin uden og efter forbehandling med aureomycin.

Lignende forsøg som dette fandtes ikke beskrevet ved gennemgang af litteraturen. Forsøget synes at bekræfte teorien om, at sulfhæmoglobindannelsen skyldes resorption af svovlbrinte fra tarmen.

Da sulfhæmoglobindannelsen efter indtagelse af magniumsulfat som vist øges stærkt ved samtidig indgift af methæmoglobindannere, udførtes et forsøg for at undersøge, om methæmoglobindannelsen også var påvirkelig af en sterilisering af tarmen med aureomycin. På 5 personer foretoges belastning med chloranilin. Blodet undersøgtes 2 timer senere, hvor der var dannet rigelige mængder methæmoglobin. De 5 personer fik derefter 250 mg aureomycin 4 gange daglig i 5 dage, hvorefter belastningen med chloranilin blev gentaget. Tabel 23 viser, at der ikke skete nogen ændring i methæmoglobindannelsen efter chloranilinindgift hos de aureomycinbehandlede.

Når aureomycin kunne hindre dannelsen af sulfhæmoglobin efter indtagelse af sulfat og chloranilin, tyder disse fund på, at grunden er, at svovlbrintedannelsen i tarmen hindredes. Derimod var chloranilinets methæmoglobindannende evne upåvirkelig af aureomycinindgiften og uden betydning for sulfhæmoglobindannelsen, når der ikke var svovlbrinte i tarmen.

Forsøgene i dette kapitel har vist, at methæmoglobindannelsen sker efter resorption af det methæmoglobindannende stof, medens sulfhæmoglobindannelsen er af enterogen oprindelse. Forsøgene bekræfter *van den Berghs* teori fra 1905. Han påviste som tidligere nævnt sulfhæmoglobinæmi hos en dreng med strictura ani, og forklarede sulfhæmoglobinæmiens opståen ved øget svovlbrintedannelse i tarmen på grund af øget bakterieindhold i den syge tarm. Han antog, at svovlbrinte efter resorption omdannede hæmoglobin til sulfhæmoglobin. Også *Snappers* fund (1925), at samtidig ind-

tot.-hbg. 107 pct.	5 min.	10 min.	30 min.	1 time	2 timer	3 timer	24 timer
	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.
Ufortyndet blod	0,2	0,1	0,2	0	0	0,1	0,2
Fortyndet blod	..	..	0,4	0,3	0,4	0	5,8

Tabel 24. Resultaterne af methæmoglobinanalyser udført på blod fra normal person 5, 10 og 30 minutter samt 1, 2, 3 og 24 timer efter blodtagningen. I første række ses resultaterne af analyser, hvor blodfortyndingen først er sket umiddelbart før analysen, i anden række resultaterne af analyser, hvor fortyndingen er sket lige efter blodtagningen.

gift af et methæmoglobindannende stof øger sulfhæmoglobindannelsen, bekræftedes.

I praksis er det ofte umuligt at foretage methæmoglobin- og sulfhæmoglobinanalyserne hurtigt efter blodtagningen. Det er i 1. kapitel nævnt, at der i blod, der henstår, samtidig er tendens til spontan methæmoglobindannelse og til reduktion af det dannede methæmoglobin. For at undersøge, hvilken indflydelse henstand af blodet har på methæmoglobinbestemmelsernes nøjagtighed, udførtes følgende forsøg:

Først udførtes forsøg, der havde til hensigt at undersøge, om tendensen til spontan methæmoglobindannelse havde indflydelse på analyseresultatet ved henstand af blodet i indtil 24 timer. På heparinblod fra en rask forsøgsperson udførtes methæmoglobinanalyse med spektrofotometrisk cyanidteknik umiddelbart efter blodtagningen, samt 10, 30 minutter, 1, 2, 3 og 24 timer senere. Analyserne udførtes på blodfortyndinger, der fremstilledes de nævnte tider efter blodtagningen. Desuden udførtes methæmoglobinanalyser ½, 1, 2, 3 og 24 timer efter blodtagningen på 1/50 blodfortynding, hvor fortyndingen skete straks efter blodtagningen. Alle blodprøver henstod ved stuetemperatur fra blodtagningen til analysen fandt sted. Resultatet af forsøget ses i tabel 24. Det ses, at methæmoglobinindholdet praktisk taget var 0 pct. i blodprøven og vedblev at være 0 indenfor de første 24 timer, når blot blodet henstod ufortyndet. Ved henstand i 24 timer i fortyndet tilstand dannedes der derimod 5.8 pct. methæmoglobin. Dette forsøg viste, at der i normalt blod ikke kommer methæmoglobindannelse ved henstand i indtil 1 døgn, når blot blodet henstår i ufortyndet tilstand. Henstår blodet derimod i fortyndet tilstand, kommer der allerede i første døgn en betydelig methæmoglobindannelse.

Det er tidligere nævnt, at *Warburg og Christian* (1931) viste, at den enzymatiske methæmoglobinreduktion kun kunne ske ved tilstedeværelse af heksosemonofosfat, glukose eller fruktose. Man tænkte sig, at man kunne hindre den spontane methæmoglobindannelse i fortyndet blod ved

	totalhgb.	methb. i blind-proven	methgb. i 2 timers-prøven	24 timer ved + 3°	24 timer ved ÷ 20°	48 timer ved + 3°	48 timer ved ÷ 20°	72 timer ved + 3°	72 timer ved ÷ 20°
	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.
1	86	2,3	13,8	..	..	2,3	..	..	..
2	80	2,2	29,5	..	..	..	..	0,3	..
3	90	0,9	19,2	..	..	5,0	17,0	..	..
4	82	0,3	26,6	..	..	6,5	22,3	..	..
5	98	0,5	40,5	30,4	40,5	..	..	..	..
6	90	0,2	4,6	1,4	7,0	..	..	..	..

Tabel 25. Resultaterne af methæmoglobinbestemmelse umiddelbart efter blodtagningen og 24, 48 og 72 timer senere efter henstand dels ved + 3°, dels ved ÷ 20°.

at øge glukoseindholdet i blodet og derved begunstige den enzymatiske methæmoglobinreduktion. Der udførtes derfor et forsøg, hvor blod med en totalhæmoglobinprocent på 90 fortyndedes 1/50. Blodfortyndingen deltes i 2 halvdele, der tilsattes 2 pct. glukose til den ene halvdel, og prøverne hensattes ved stuetemperatur i 24 timer. Derefter undersøgtes de for methæmoglobin, og man fandt henholdsvis 7.7 og 8.5 pct. methæmoglobin i den ubehandlede prøve og i prøven med 2 pct. glukose. Glukosetilsætning kunne således ikke hindre den spontane methæmoglobindannelse i fortyndet blod.

Det næste forsøg, der udførtes, havde til hensigt at undersøge, hvor stor en indflydelse de methæmoglobinreducerende enzymer har på methæmoglobinindholdet i blod, der henstår en tid efter blodtagningen. Det er nævnt, at disse enzymer, der er aktive i organismen, også er aktive i blod, der henstår i luften efter blodtagningen. For at undersøge, om henstand af methæmoglobinholdigt blod ændrede methæmoglobinbestemmelsernes resultat, udførtes følgende forsøg på blod fra de beskrevne belastningsforsøg. Der anvendtes 2-timersprøverne fra forsøget med belastning med 10 mg chloranilin. Prøverne undersøgtes umiddelbart efter blodtagningen for methæmoglobin. Derefter deltes hver blodprøve i 2 portioner. Den ene portion hensattes i almindeligt køleskab med en temperatur på ca. + 3 grader, den anden i dybfryser med en temperatur på ca. ÷ 20 grader. Blodet fra 2 personer undersøgtes 24 timer senere, fra 3 personer 48 timer senere og fra 1 person 72 timer senere. Resultatet af forsøget ses i tabel 25. Det ses, at ved + 3 grader skete der et betydeligt svind af methæmoglobinindholdet allerede efter 24 timers forløb. Efter 48 og 72 timers forløb var næsten al methæmoglobin forsvundet. Ven henstand ved ÷ 20 grader i 24 timer bevaredes methæmoglobinindholdet derimod uforandret, efter 48 timers forløb kom der et methæmoglobinsvind, men langt mindre end efter henstand ved 3—4 grader.

	totalhæmogl.	methæmoglobin		
		heparin	oxalat	citrat
	pct.	pct.	pct.	pct.
1	86	3,7	3,7	4,0
2	85	0,5	0,3	0,5
3	80	29,3	29,1	29,0
4	90	19,2	16,3	..
5	82	26,6	24,8	..

Tabel 26. Resultaterne af samtidig methæmoglobinbestemmelse på heparin-, oxalat- og citratblod.

Disse undersøgelser viser vigtigheden af at foretage methæmoglobinanalyser hurtigt efter blodtagningen, helst inden for 2—3 timer. Hvor dette af praktiske grunde ikke lader sig gøre, kan man inden for det første døgn få nogenlunde pålidelige resultater ved at opbevare blodprøven i dybfryser ved ÷ 20 grader, indtil analysen kan finde sted.

De hidtil beskrevne methæmoglobinanalyser er sket på heparinblod. Overensstemmelsen mellem spektrometriske og gasometriske methæmoglobinanalyser var som tidligere beskrevet fuldstændig på heparinblod. For at undersøge om det havde nogen indflydelse på resultatet, hvis man i stedet brugte oxalat-eller citratblod, udførtes forsøg med samtidig analyse af methæmoglobinholdigt blod taget dels som heparinblod, dels som oxalatblod og dels som citratblod. Resultatet af 5 sådanne forsøg ses i tabel 26, der viser, at man ligeså godt kan anvende oxalat- og citratblod til methæmoglobinanalyser som heparinblod.

7. kapitel.

UNDERSØGELSE AF PATIENTER MED METHÆMOGLOBINÆMI OG SULFHÆMOGLOBINÆMI

Siden marts 1953 har man på Sygekasselægernes Organisations Laboratorium (SOL) rutinemæssigt undersøgt alt blod, der indsendes til undersøgelse for met- og sulfhæmoglobin, kvantitativt for begge dele efter de i kapitel 3 og 4 beskrevne spektrofotometriske metoder. Resultaterne er såvel for totalhæmoglobin som for methæmoglobin og sulfhæmoglobin opgivet som procent af standardhæmoglobin, hvor 100 pct. svarer til 19.8 volumenprocent ilt. Som beskrevet i kapitel 6 fandtes ved undersøgelse af blod fra 18 normale personer i intet tilfælde over 1 pct. methæmoglobin og intet sulfhæmoglobin. På grundlag af disse resultater mente man at kunne fastslå, at sulfhæmoglobin ikke forekommer i normalt blod og methæmoglobin kun i minimale mængder. Et methæmoglobin- eller sulfhæmoglobinindhold på 2 pct. eller mere har man derfor anset for sikkert patologisk.

I tiden 1/3-1953 til 1/11-1955 undersøgtes på laboratoriet ca. 200 blodprøver for methæmoglobin og sulfhæmoglobin. Ved gennemgang af dette materiale fandtes i 93 tilfælde en sikker forhøjelse af met- eller sulfhæmoglobinindholdet på 2 pct. eller mere. Blodet stammede i alle tilfælde fra patienter indlagte i københavnske hospitalsafdelinger. Journalerne fra disse 93 patienter opsøgtes for at belyse det kliniske billede ved met- og sulfhæmoglobinæmi. Blodprøverne var i alle tilfælde indsendt, fordi patienterne havde en påfaldende cyanose, der ikke lod sig forklare ved cardiopulmonal insufficiens. En væsentlig del af de pågældende patienter havde man personligt lejlighed til at observere. Cyanosen var hos disse den tidligere beskrevne kølige, gråblege cyanose, der er karakteristisk for medicamentel forgiftning. Denne cyanose kan i regelen med nogen øvelse umiddelbart skelnes fra cyanosen ved cardiopulmonal insufficiens. Misfarvningen er stærkest på læber, kinder, øren og fingre. Endvidere er cyanosen i regelen fremtrædende på slimhinderne. Slimhindecyanosen er særlig let iagttagelig på tungen.

Ved gennemgang af journalerne søgte man at få oplyst, hvilke sygelige tilstande og hvilke medikamenter, der i praksis forårsager methæmoglobin-

æmi eller sulfhæmoglobinæmi. For medikamenternes vedkommende søgte man oplyst, hvor stor en dosis der var indtaget, og i hvor lang tid patienterne havde indtaget de pågældende medikamenter. Endelig undersøgtes, om patienterne havde tarmforstyrrelser. Af tarmforstyrrelser fandtes hos de undersøgte patienter kun obstipation og diarrhoe, medens egentlige tarmsygdomme ikke forekom.

Resultatet af journalgennemgangen er skematisk opført i tabel 27. Patienternes alder var mellem 25 og 83 år. Alle aldersklasser mellem disse to yderpunkter var ligeligt repræsenteret. Flertallet af patienterne var kvinder, idet materialet omfatter 69 kvinder og 24 mænd.

Patienterne er ordnet efter mængden af abnormt pigment i blodet. Der var 57 patienter med isoleret methæmoglobinæmi (patienter med mere end 2 pct. methæmoglobin i blodet og et sulfhæmoglobinindhold på 0 eller højst 1.9 pct.), 18 patienter med isoleret sulfhæmoglobinæmi (patienter med mere end 2 pct. sulfhæmoglobin i blodet og et methæmoglobinindhold på 0 eller højst 1.9 pct.) og 18 patienter med både methæmoglobinæmi og sulfhæmoglobinæmi (patienter med både met- og sulfhæmoglobin i blodet i en koncentration større end 2 pct.).

Som det fremgår af tabel 28, var der i gruppen af rene methæmoglobinæmier 5 patienter med mere end 10 pct., 22 med 5—10 pct. og 30 med 2—5 pct. methæmoglobin i blodet. I gruppen af rene sulfhæmoglobinæmier var der 3 med mere end 10 pct., 5 med 5—10 pct. og 10 med 2—5 pct. sulfhæmoglobin i blodet. I gruppen af kombinerede met- og sulfhæmoglobinæmier var der 4 med mere end 10 pct., 13 med 5—10 pct. og 1 med 2—5 pct. abnormt blodpigment. Hos 12 af disse patienter fandtes mere methæmoglobin end sulfhæmoglobin, hos 6 mere sulfhæmoglobin end methæmoglobin.

I det foreliggende materiale var methæmoglobinæmi således mere end dobbelt så hyppig som sulfhæmoglobinæmi. I de kombinerede met- og sulfhæmoglobinæmier forekom methæmoglobin som væsentligste bestanddel i dobbelt så mange tilfælde som sulfhæmoglobin.

I tabel 27 ses, at de undersøgte patienter behandledes for vidt forskellige lidelser. Visse sygdomme eller symptomer forekom dog gentagne gange. Man har søgt at gruppere patienterne efter sygdommens art (tabel 29). Nogle patienter havde flere sygdomme eller symptomkomplexer og er derfor medtaget i mere end een gruppe. Det ses af tabellen, at en stor del af patienterne led af sygdomme, der i regelen ledsages af smerter. Der var således 11 patienter med chronisk polyarthritis, 8 med arthroser i knæled eller hofteled, 10 med myoser, 1 med diskusprolaps og 4 med metastaserende cancer. Alle disse patienter havde indtaget forskellige pulvere og tabletter for at lette deres smerter.

	Køn	Alder	Diagnose	Tarm-symptomer	Medikament og omtrentlig dosis	tot.-hgb. pct.	met-hgb. pct.	sulf.-hgb. pct.
1	K	48	resect. ventr. seq. anæmia	÷	tbl. codeipheni 2×3 i 3 dage	81	29,6	0,3
2	M	56	meningitis purulenta otit. med. aur. d.	÷	inject. sulfametizoli 5 ml×4 i 3 døgn	102	22,7	0
3	K	44	tentamen suicidii depr. ment. psych.	÷	20 coffazintbl. + 20 sovetbl. i suicidal hensigt	101	12,8	0
4	K	26	icterus hæmolyt. methæmoglobinæmia venef. medic.	÷	3 saridontbl. dgl. gn. lang tid + 50 tbl. lucosil mit.	62	12,7	0
5	M	68	polyarthritis arthrosis gen. mb. cordis	÷	sm. still. tbl. i stort antal. Art ikke oplyst	79	11,9	0
6	M	48	mb. Recklingh. dolores faciei	÷	6 codyltbl. dgl. gn. lang tid	111	8,8	0,5
7	K	40	venef. medic. metrorhagia	stærk ob-stip.-tend.	2—4 capacetyltbl. dgl. gn. lang tid	69	8,6	0
8	K	77	bronchit. acuta arthrosis gen. adipositas	÷	5—6 codeiphentbl. dgl. gn. mange mdr.	93	8,2	1,5
9	K	42	depressio ment. climact.	÷	talrige hovedpinetbl. Art ikke oplyst	87	8,0	0
10	K	38	febris continua pyuria venef. medic.	obstip.-tendens	6—10 capacetyltbl. dgl. gn. ca. 10 år sulfametizol i 5 dage	52	7,8	0
11	K	45	meningitis purulenta pneumococ. sepsis	÷	sulfametizol 10 ml dgl. gn. 4—5 dage	84	7,7	0
12	K	35	neurosis constitut. abusus spir.	÷	saridon ca. 20 tbl. dgl. gn. fl. mdr.	108	7,1	0
13	M	34	cephalalgia methæmoglobinæmia	÷	3—6 capacetyltbl. dgl. gn. 6—8 år	99	7,0	0
14	M	33	nervosis. e labore abusus medic. myoses nuchae	÷	gn. 8 år stort saridon-forbrug	115	6,9	0
15	M	63	colitis anæmia methæmoglobinæmia	obstip.-tendens	6—10 codyltbl. dgl. gn. fl. mdr.	90	6,8	0
16	K	46	prolapsus disci iv. (ischias dxt.)	÷	stort antal codyltbl. gn. mange mdr.	92	6,7	0
17	M	45	venef. medic. fract. cranii seq.	÷	20 tbl. diallyphen i suicidal hensigt. Stort forbrug af hvp.tbl.	95	6,7	0
18	K	39	grav. extraut. abusus medic. cephalalgia	÷	coffiplex 2×4 gn. mange mdr. + ialt 20 lucosiltbl.	74	6,4	0

fortsættes

	Kon	Alder	Diagnose	Tarm-symptomer	Medikament og omtrentlig dosis	tot.-hgb. pct.	met-hgb. pct.	sulf.-hgb. pct.
19	K	51	hypertensio art. methæmoglobinæmia myxodema comp.	obstip.-tendens	en del gelonidatbl. + stort antal coffiplex gn. fl. år	88	6,3	0
20	K	52	dyschinesia sphincter Oddi depressio ment. myoses dorsi	betydel. obstip.-tendens	codeiphen 2 tbl. × 3 gn. fl. mdr.	93	6,1	0
21	K	70	abusus medic. pseudarthrosis col. fem. sin colitis	afveksl. diarrhoe og obstip.	4 codyl + 2 coffiplex tbl. dgl. gn. fl. uger	73	6,0	0
22	K	66	cancer mam. recidiv.	÷	stort antal codyltbl. gn. lang tid	94	5,9	0
23	M	38	ulcus cruris methæmoglobinæmia	÷	stort forbr. af coffiplex gn. flere år. Af og til codeiphen	53	5,5	0
24	M	26	tentamen suicidii depr. mentis psych. abusus spir.	÷	100 codeiphen tbl. i suicidal hensigt	106	5,3	0
25	K	46	hemicrania nervosismus const.	obstip.-tendens	stort antal coffiplex gn. flere år sulfametizol p. g. a. cystit	58	5,2	0
26	K	49	depr. mentis methæmoglobinæmia	÷	en del forsk. tbl. Art ikke oplyst	91	5,2	0
27	K	59	polyarthritis	obstip.-tendens	stort forbrug af codeiphen tbl. gn. fl. år	63	5,1	0
28	M	55	hæmochromatosis methæmoglobinæmia	÷	intet medicinforbrug	99	4,7	0
29	K	53	meningitis purulenta (pneumococ) sepsis	÷	inject. sulfametizol 10 ml dgl. gn. 5 dage	96	4,6	0
30	K	56	obstipatio chr. climact.	obstip.-tendens	2—8 codyltbl. dgl. + en del afforingspiller	77	4,4	0.2
31	K	67	dement. præsenilis inferioritas intellect. arthrosis gen.	÷	stort antal sm. still. tabl. Art ukendt	78	4,1	0
32	M	45	myoses nuchae hypertensio art.	÷	talrige forsk. hvp.-tbl. gn. flere år	81	4,1	0
33	M	47	polyarthritis chr. nervosismus neurasth.	obstip.-tendens	stort antal sm. still. tabl. Art ukendt	94	3,9	0
34	K	47	myoses lumboglut. chrysiasis	obstip.-tendens	intet medicinforbrug	79	3,9	0
35	K	25	venef. phenacetini cephalalgia	÷	stort forbr. blandede hvp.pulvere gn. fl. år	96	3,6	0
36	M	49	tentamen suicidii alcoholismus chr. mb. cordis	÷	100 codyltbl. i suicidal hensigt	78	3,4	0

fortsættes

	Køn	Alder	Diagnose	Tarm-symptomer	Medikament og omtrentlig dosis	tot.-hgb. pct.	met-hgb. pct.	sulf.-hgb. pct.
37	M	72	arterioscl. cerebri castrationis seq. inversio sex.	÷	en del phenacetintbl. gn. fl. år p. g. a. hvp.	93	3,4	0
38	K	39	tentamen suicidii abusus medic.	÷	stort antal ketogantbl. + stort ant. hvp.tbl.	99	3,4	0
39	K	45	epidermophytia eczema ellerg. methæmoglobinæmia	÷	en masse hvp.tbl. gn. fl. år bl. a. phenacetin	85	3,4	0
40	K	26	polyarthritis chr.	obstip.-tendens	stort antal codeiphen + magnyltbl. gn. lang tid	78	3,3	0
41	K	38	neurosis (neurasth.) venef. medic.	kraftig obstip.-tendens	6—7 gelonidatbl. dgl. gn. flere år	88	3,2	0,5
42	K	36	venef. medic. salpingectomiae seq.	÷	en del diallyphentbl. + gentagne gange lucosil p. g. a. cystit	75	3,2	0
43	K	36	encephalitis chr.	÷	ukendt antal hvp.-tbl. phenemal 10 cg × 3	75	3,2	0
44	K	42	climact. neurosis cord.	obstip.-tendens	ukendt antal capacetyltbl. gn. lang tid	102	3,2	0
45	K	62	neurosis depr. mb. cordis	lang tids diarrhoe	stort antal tbl. Art uoplyst	71	3,1	0
46	K	33	pyuria methæmoglobinæmia venef. medic. (lucosil)	diarrhoe tendens	lucosil 2 × 4 i 5 dage. Codeiphen i ukendt antal	88	3,0	1,9
47	K	39	glycosuria ulcus ventr. enterocolitis chr.	hyppige perioder med diarrhoe	stort antal coffazintbl. gn. fl. mdr.	79	3,0	0
48	M	36	cephalalgia neurosis psychosomat.	÷	10—12 tbl. dgl. p. gr. af hvp. bl. a. saridon gn. lang tid	100	2,9	0
49	M	41	venef. acetanilidi myoses nuchae	obstip.-tendens	ca. 6 coffiplex tbl. dgl. gn. flere mdr.	91	2,7	0
50	K	41	neuritis n. ulnaris sin acrocyanosis	÷	ingen medikamenter	99	2,6	1,6
51	K	69	cholelithiasis cholecystitis	÷	tbl. phenacetyl 2 × 3 gn. nogle mdr.	78	2,3	0,3
52	M	27	albuminuria orto-statica asthenia	÷	tabletforbrug ikke oplyst	111	2,3	0
53	K	35	myoses variae	÷	5—6 codeiphentbl. dgl. i 8—9 mdr.	85	2,2	0
54	K	54	polyarthritis hypertensio art.	÷	6—8 codyltbl. dgl. gn. fl. år	85	2,1	0

fortsættes

	Køn	Alder	Diagnose	Tarm-symptomer	Medikament og omtrentlig dosis	tot.-hgb. pct.	met-hgb. pct.	sulf.-hgb. pct.
55	M	29	neuralgia supraorbitalis	÷	ca. 10 codyl- og capacetyltbl. dgl. gn. fl. år	88	2,1	0
56	M	58	traumatis capitis seq. kyfoscoliose	obstip.-tendens	ca. 25 coffazintbl. dgl. gn. 6 mdr.	90	2,1	0
57	K	66	venef. medic. adipositas myxødema polyarthritis	betydel. obstip.	ukendt antal codeiphentbl. gn. flere år	65	2,0	0
58	K	71	abusus medic. sulfhæmoglobinæmia anæmia	obstip.-tendens	gn. 4—5 mdr. dgl. carlsbadersalt + 6—8 codyltbl. dgl.	69	0	14,6
59	M	57	ulcus ventr. gastroenteroanastomosis venef. medic.	÷	stort antal pulvere indeholdende phenacetin og acetanilid gn. flere år	78	0	14,3
60	K	35	psychosis psychogenica (hysteria)	obstip.-tendens	carlsbadersalt gn. flere år	71	0	11,0
61	K	48	myoses nuchae arthrosis coxae abusus medic.	obstip.-tendens	1 skefuld carlsbadersalt 2—3 × ugl. gn. flere år	85	0	8,0
62	K	37	obstipatio chr. colitis chr.	kraftig obstip.-tendens	sol. magn sulf. g 15 × 2 i 4 uger	73	0,9	7,2
63	K	32	neurosis anxiosa hysteriform abusus medic.	÷	50 coffazin + 50 saridontbl. ugl. gn. fl. mdr	78	1,2	7,2
64	K	41	psychopatia const. abusus medic.	obstip.-tendens	6—8 codyltbl. dgl. gn. fl. år allyprop. + scopyl	90	0	6,0
65	K	74	mb. cordis dissociat. atrio ventr. polyarthritis chr.	÷	morphin cg 1 gn. fl. mdr. phenacetin cg 50 + acid. salicyl cg 50	72	0	5,0
66	K	77	diab. mell. herpes zoster	obstip.-tendens	stort antal codeiphentbl. gn. fl. uger	81	0	4,7
67	K	71	diab. mell. gangræna ped. sin. nephropatia diab.	÷	gn. mange år pulvere indeholdende acetanilid	78	1,8	4,5
68	K	48	lumbago obs.	obstip.-tendens	en del codyltbl. gn. lang tid	73	1,5	4,4
69	K	72	venef. phenemali et phenacetini arthrosis gen. polyarthritis chr.	÷	ubestemt antal phenemal og codeiphen	80	0	4,0
70	K	27	bronchitis ac. pneumoniae seq.	obstip.-tendens	6 capacetyl el. codyl dgl. i 1 uge	103	0	4,0
71	M	41	sarcomatosis	÷	sol. magn. sulf. g 15	64	0	3,3

fortsættes

	Køn	Alder	Diagnose	Tarm-symptomer	Medikament og omtrentlig dosis	tot.-hgb. pct.	met-hgb. pct.	sulf.-hgb. pct.
			intracranialis		×2 i 3 uger + codeiphentbl.			
72	K	65	polyarthritis chr.	obstip.-tendens	ca. 4 codeiphentbl. dgl. gn. flere uger	89	1,7	2,9
73	K	70	tentamen suicidii depr. ment. psych. neurasth anæmia pern.	÷	50 noctiphen + 50 codyl i suicidal hens.	98	0	2,3
74	K	35	epilepsia crypt. cephalalgia myoses nuchae	÷	difhydan 10 cg×3 stort forbrug af codeiphen	70	1,6	2,2
75	M	50	angioma racemosum a. cer. ant. sin. hæmatoma vetus lob. front. sin.	÷	sol. magn. sulf. g 15 ×2 i 20 dage	103	0	2,0
76	K	34	graviditas methæmoglobinæmia	obstip.-tendens	hævder kun at have taget ialt 10 gelonida-tbl.	78	14,8	6,1
77	K	82	intoxicatio codeipheni pyuria c. abd. obs. pro	kraftig obstip.-tendens	gn. lange tider stort forbrug af codeiphentbl.	88	12,3	5,8
78	K	59	polyarthritis chr.	÷	4—6 codeiphentbl. dgl. gn. flere mdr.	63	6,6	3,0
79	K	53	hypernephroma dxt. operata metast. ad cerebellum	obstip.-tendens	sol. magn. sulf. g 15 ×2 i 14 dage + ukendt antal codeiphen	68	6,3	4,3
80	K	76	diab. mell. obstip. chr. decubitus	kraftig obstip.-tendens	ca. 6 codyltbl. dgl. gn. 3 år	55	5,5	2,0
81	K	58	cirrhosis hepatis. anæmia ascites	kraftig obstip.	enormt antal tbl. af forsk. art bl. a. codeiphen gn. flere år	60	5,2	2,0
82	K	65	pyuria adipositas myxødema?	hyppig diarrhoe	codeiphen 2×3 gn. fl. mdr. sulfametizol 2×5 i 5 dage	76	5,0	4,1
83	K	53	nephropatia (pyelonephritis chr.) hypertensio art.	obstip.-tendens	7—8 codeiphentbl. dgl. gn. 1 år gentagne gange lucosil	62	4,6	4,5
84	K	50	polyarthritis chr.	obstip.-tendens	8—9 codyltbl. dgl. gn. flere år	57	3,6	2,0
85	K	43	dolores abdominis adhæsiones peritonei	obstip.-tendens	stort forbrug af saridon og codeiphen	68	3,4	2,7
86	M	42	migræne venef. phenacetini + acetanilidi	obstip.-tendens	coffiplex 2 tbl. ×3—4 gn. fl. år	81	3,2	2,0

fortsættes

	Køn	Alder	Diagnose	Tarm-symptomer	Medikament og omtrentlig dosis	tot.-hgb. pct.	met-hgb. pct.	sulf.-hgb. pct.
87	K	53	hepatitis obstipatio chr.	obstip.-tendens	codeiphen 2 tbl. jævnligt	93	2,2	2,0
88	K	83	arterioscl. univ. osteoarthrosis coxae	obstip.-tendens	carlsbadersalt gn. 25 år + en del codeiphen p. g. af sm.	97	6,5	9,6
89	K	30	brompsykose abusus medic.	÷	ketogan + en del andre sm. stillende tbl.	86	2,0	6,0
90	M	66	melæna ulcus duodeni	obstip.-tendens	coffein cg 10 natrium-salicylat + acetanilid a cg 50 gn. fl. år	82	3,9	5,0
91	K	44	melæna menorrhagia	÷	2—3 coffeophena-cetin dgl. gn. fl. år	77	2,6	4,9
92	K	69	pyelonephritis chr. uræmia vera polyarthritis chr.	obstip.-tendens	stort antal codei-phentbl. gn. fl. år	40	2,8	4,5
93	K	77	arthrosis coxae dxt. + gen. dupl. hyper-tensio art.	÷	5—10 codyltbl. gn. flere mdr.	87	2,7	3,0

Tabel 27. Resultatet af bestemmelse af totalhæmoglobin, methæmoglobin og sulfhæmoglobin hos 93 patienter. Desuden ses diagnose, medikamentindtagelse og eventuel tarmlidelse.

En af de hyppigste årsager til langvarigt forbrug af smertestillende midler var hovedpine. 37 patienter angav hovedpine som en væsentlig årsag til medicinindtagelse. Blandt disse patienter var dels patienter, hvor hovedpinen var et led i en chronisk almenlidelse, dels en række patienter, hvor hovedpinen var et ledsagesymptom ved nervøse lidelser, og endelig nogle patienter, hvor hovedpinen tilsyneladende var eneste symptom. I denne forbindelse må man, som tidligere nævnt, fremhæve, at vedvarende stort forbrug af hovedpinetabletter kan medvirke til at vedligeholde hovedsmerterne på grund af en chronisk intoxikation. For de met- og sulfhæmoglobindannende stoffers vedkommende kan dette forklares ved, at met- og sulfhæmoglobinæmi ofte ledsages af træthed og hovedpine.

En stor gruppe patienter, ialt 26, havde psykiske lidelser. De fleste af disse patienter var neurotiske eller astheniske individer, der havde et stort medicinforbrug, dels af stimulerende og dels af smertestillende art. Blandt disse patienter var der flere med depressive tilstande, således var der 5, der havde indtaget store mængder tabletter i suicidal hensigt.

I gruppen, der i skemaet er betegnet som varia, var 13 patienter med vidt forskellige sygdomme. Disse var resectionis ventriculi sequelae, morbus Recklinghausen, colitis, ulcus cruris, hæmochromatosis, salpingitis, neuritis

	> 10 pct.	5—10 pct.	2—5 pct.	I alt
Methæmoglobinæmi	5	22	30	57
Sulfhæmoglobinæmi	3	5	10	18
Met- og sulfhæmoglobinæmi	4	13	1	18

Tabel 28. Antallet af met- og sulfhæmoglobinæmier over 10 pct., mellem 5 og 10 pct. og mellem 2 og 5 pct.

nervi ulnaris, cholelithiasis, herpes zoster, gangræna pedis, cirrhosis hepatis og adhæsiones peritonei. De fleste af disse patienter havde smerter og havde indtaget forskellige smertestillende midler.

De hidtil nævnte patienter led af vidt forskellige sygdomme, de fleste af chronisk natur. Langt de fleste af disse patienter havde haft et enormt forbrug af forskellige slags smertestillende medicin.

En mere ren gruppe er gruppen med 3 patienter med purulent meningitis. Disse patienter havde kun været syge i få dage og udviklede en acut cyanose under behandling med sulfamethizol.

De 9 patienter med pyuri havde ligeledes fået sulfamethizol. For denne gruppes vedkommende var forholdene mere komplicerede, fordi alle disse patienter havde flere forskellige klager og desuden havde indtaget smertestillende midler.

Som en sidste gruppe er medtaget 5 patienter, der led af chronisk obsti-

Sygdom	Antal
Polyarthritis chr.	11
Arthrosis	8
Myoses	10
Prol. disci	1
Cancer metast.	4
Cephalalgia	37
Psykiske lidelser	26
Meningitis purulenta	3
Pyuria	9
Varia	13
Obstipatio chr. (beh. med sulfat)	5

Tabel 29. De vigtigste sygdomsgrupper i materialet af met- og sulfhæmoglobinæmier.

pation og derfor havde indtaget sulfater som afføringsmidler. 2 patienter havde desuden indtaget smertestillende tabletter. 4 af disse patienter havde isoleret sulfhæmoglobinæmi. Den 5., der foruden Carlsbadersalt havde indtaget codeiphen, havde både met- og sulfhæmoglobinæmi.

Det viste sig at være meget vanskeligt at få nøjagtige oplysninger om, hvilke medikamenter de undersøgte patienter havde indtaget. Ligeså vanskeligt var det at få oplyst, hvor stor en dosis der var anvendt, og hvor lang tid der var indtaget medicin. En meget stor del af patienterne havde indtaget flere forskellige slags tabletter eller pulvere og kunne ikke give præcise oplysninger om medikamenternes art, dosis og forbrugets varighed. Fælles for de fleste af de anvendte medikamenter var, at de enten indeholdt phenacetin eller acetanilid. Enkelte patienter havde indtaget sulfonamider, og endelig var der nogle få patienter, der havde indtaget sulfater.

De pågældende medikamenter var:

1. phenacetinholdige:
   a. phenacetintabletter eller pulvere.
   b. phenacetyltabletter, der indeholder 25 cg phenacetin og 25 cg acetylsalicylsyre.
   c. codeiphentabletter, der indeholder 1 cg codeinphosfat, 25 cg phenacetin og 25 cg acetylsalicylsyre.
   d. codyltabletter med samme indhold som codeiphentabletter.
   e. gelonidatabletter med samme indhold som codeiphentabletter.
   f. diallyphentabletter, der indeholder 3 cg diallymal og 50 cg phenacetin.
   g. coffiplextabletter, der indeholder 5 cg coffein, 15 cg phenacetin, 15 cg acetanilid og 15 cg antipyrin.
   h. capacetyltabletter, der indeholder 5 cg coffein, 15 cg acetylsalicylsyre, 15 cg phenacetin og 15 cg salipyrin.
   i. coffazintabletter, der indeholder 1 cg aethallymal, 5 cg coffein, 25 cg phenacetin og 25 cg isopropylantipyrin.
   j. saridontabletter, der indeholder 15 cg isopropylantipyrin, 25 cg phenacetin, 5 cg 3.3-diaetyl-2.4-dioxytetrahydropyridin og 5 cg coffein.
   k. coffeophenacetintabletter, der indeholder 5 cg coffein og 50 cg phenacetin.
   l. blandede hovedpinepulvere af forskellig art, i regelen indeholdende coffein, acetanilid, phenacetin og antipyrin.

2. acetanilidholdige:
   a. acetanilidtabletter eller pulvere.
   b. coffiplextabletter, der indeholder 5 cg coffein, 15 cg acetanilid, 15 cg phenacetin og 15 cg antipyrin.

c. blandede hovedpinepulvere indeholdende coffein, acetanilid, phenacetin og antipyrin.

3. sulfonamider:
   a. sulfamethizol, dels som tabletter, dels som injektionspræparat.
   b. lucosil, der er det samme som sulfamethizol.

Som nævnt i første kapitel regnes phenacetin, acetanilid og sulfonamider for de vigtigste met- og sulfhæmoglobindannende medikamenter. De kan dels give anledning til isoleret methæmoglobinæmi eller sulfhæmoglobinæmi, dels til kombineret met- og sulfhæmoglobinæmi.

4. sulfater:
   a. Carlsbadersalt, der indeholder både natrium- og kaliumsulfat.
   b. solutio magnesii sulfatis, der er en 20 pct. opløsning af magniumsulfat.

Sulfaterne har særlig interesse, fordi de ved indtagelse som eneste medicin i modsætning til de forannævnte medikamenter, der kan give anledning til såvel met- som sulfhæmoglobinæmi, kun kan give anledning til sulfhæmoglobinæmi. Som nævnt i kapitel 1 og 6, kan sulfaters sulfhæmoglobindannende evne øges ved samtidig indtagelse af et methæmoglobindannende stof.

Tabel 30 viser: af patienter med isoleret methæmoglobinæmi havde 40 indtaget phenacetinholdige medikamenter, 7 acetanilidholdige og 8 sulfamethizol. 9 havde indtaget forskellige smertestillende tabletter, hvis art ikke var nærmere oplyst. 3 nægtede at have indtaget nogen form for medicin.

Af patienter med isoleret sulfhæmoglobinæmi havde 4, såvidt det lod sig oplyse, som eneste medikament fået sulfat. Af de øvrige patienter med isoleret sulfhæmoglobinæmi havde 11 indtaget phenacetinholdige medikamenter, 2 acetanilidholdige. 2 patienter havde indtaget både phenacetin og sulfat.

Af patienter med både met- og sulfhæmoglobinæmi havde 17 indtaget phenacetinholdige medikamenter, 2 acetanilidholdige, 2 sulfamethizol, og 2 havde foruden phenacetin indtaget sulfater.

De patienter, der havde indtaget smertestillende midler, havde næsten alle indtaget medikamenterne gennem lang tid, de fleste endda i flere år. Undtagen er patienterne nr. 1, 24, 36 og 76. Nr. 1 og nr. 76 havde kun indtaget 10—12 henholdsvis codyl og gelonidatabletter, og havde begge en acut opstået cyanose, der ophørte hurtigt efter ophør med tabletindtagelsen. Patienterne nr. 24 og 36 havde ligeledes en acut opstået cyanose efter indtagelse af henholdsvis 100 codeiphen- og 100 codyltabletter i suicidal hensigt. Patienterne nr. 2, 11 og 29 havde også en acut opstået methæmo-

	Phenacetin	Acetanilid	Sulfa-methizol	Sulfat	Intet kendt Medicin-forbrug
Methæmoglobinæmi	40	7	8	0	3
Sulfhæmoglobinæmi	11	2	0	6	0
Met- og sulfhæmoglobinæmi	17	2	2	2	0

Tabel 30. Antallet af patienter med methæmoglobinæmi og sulfhæmoglobinæmi efter indtagelse af phenacetin, acetanilid, sulfamethizol og sulfat.

globinæmi. Disse 3 patienter havde alle purulent meningitis og havde fået injektion af sulfamethizol i nogle dage. Hos de øvrige patienter havde cyanosen udviklet sig gradvist under det chroniske medicinmisbrug.

Som nævnt var medicinforbruget hos flertallet af de undersøgte patienter enormt, og i en del tilfælde var der anvendt mere end eet medikament. Hos adskillige var det umuligt at få oplysning om alle de indtagne medikamenter. Som det fremgår af oversigten over de pågældende medikamenter, indeholdt en del af disse foruden phenacetin, acetanilid, sulfonamid eller sulfat en række andre stoffer, blandt andet codein, coffein, acetylsalicylsyre, salipyrin, diallymal, antipyrin og isopropylantipyrin. Mange patienter havde foruden de nævnte stoffer indtaget forskellige barbiturater og diverse afføringsmidler. Ingen af disse stoffer fandtes ved litteraturgennemgangen angivet som met- eller sulfhæmoglobindannere. Om de har spillet nogen rolle for met- og sulfhæmoglobindannelsen hos de her undersøgte patienter, kan ikke sikkert afgøres, da alle patienterne desuden havde indtaget et eller flere af de kendte met- og sulfhæmoglobindannende stoffer.

I tabel 27 er angivet, om de undersøgte patienter led af tarmforstyrrelser. De oplyste tarmforstyrrelser var enten obstipation eller diarrhoe (tabel 31). Derimod var der blandt de 93 patienter ingen med egentlige tarmsygdomme, specielt ingen tilfælde af tarmstrictur, tarmtumor, sprue eller ulcerøs colitis. Ingen af de undersøgte tilfælde indledtes med acute enteritis-symptomer.

Blandt patienterne med isoleret methæmoglobinæmi havde 37 normal tarmfunktion, 17 havde obstipationstendens og 3 diarrhoetendens. Blandt patienterne med isoleret sulfhæmoglobinæmi havde 9 normal tarmfunktion, 9 havde obstipationstendens, ingen havde diarrhoetendens. Blandt patienterne med både methæmoglobinæmi og sulfhæmoglobinæmi havde 4 normal tarmfunktion, 13 havde obstipationstendens, og 1 havde diarrhoetendens.

I methæmoglobingruppen fandtes således tarmforstyrrelser i ca. en

	Normal tarmfunktion	Obstipation	Diarrhoe
Methæmoglobinæmi	37	17	3
Sulfhæmoglobinæmi	9	9	0
Met- og sulfhæmoglobinæmi	4	13	1

Tabel 31. Antallet af patienter med normal tarmfunktion, obstipation og diarrhoe.

tredjedel af tilfældene, i sulfhæmoglobingruppen i halvdelen af tilfældene og i gruppen af kombineret met- og sulfhæmoglobinæmi i godt to tredjedele af tilfældene.

At tarmforstyrrelser fandtes i så stor en del af tilfældene med sulfhæmoglobinæmi, er i overensstemmelse med *van den Berghs* teori (1905) om sulfhæmoglobinæmiens enterogene oprindelse.

Ialt havde 39 patienter obstipationstendens. Af disse havde 26 eller to tredjedele indtaget tabletter indeholdende codein. Om disse patienter havde lidt af obstipation, før tabletmisbruget begyndte, er ikke oplyst, men i hvert fald må man regne med, at codeinindtagelsen har vedligeholdt og eventuelt forværret en bestående obstipation.

Foruden koncentrationen af methæmoglobin og sulfhæmoglobin angives i tabel 27 totalhæmoglobinkoncentrationen. Som nævnt i kapitel 1 anses anæmi for et hyppigt ledsagesymptom ved met- og sulfhæmoglobinæmi (*Ammundsen* (1939) og *Brandenburg og Smith* (1951)).

I tabel 32 vises fordelingen af totalhæmoglobinkoncentrationen hos de undersøgte patienter. Af samtlige 93 patienter havde 32 mere end 90 pct. totalhæmoglobin, d. v. s. normal hæmoglobinprocent, 19 havde 80—90 pct., d. v. s. let anæmi og 42 sværere anæmi, d. v. s. under 80 pct. hæmoglobin (25 havde 70—80 pct., 10 60—70 pct., 6 50—60 pct. og 1 under 50 pct. hæmoglobin).

Blandt patienterne med isoleret methæmoglobinæmi havde 26 mere end 90 pct. totalhæmoglobin, 11 80—90 pct., 13 70—80 pct., 4 60—70 pct. og 3 50—60 pct.

Blandt patienterne med isoleret sulfhæmoglobinæmi havde 4 mere end 90 pct. totalhæmoglobin, 4 80—90 pct., 8 70—80 pct. og 2 60—70 pct.

Blandt patienterne med kombineret met- og sulfhæmoglobinæmi havde 2 mere end 90 pct. totalhæmoglobin, 5 80—90 pct., 3 70—80 pct., 5 60—70 pct., 2 50—60 pct og 1 under 50 pct.

Som nævnt var ca. tre fjerdedele af patienterne kvinder. Da hæmoglobinkoncentrationen i regelen ligger noget lavere hos kvinder end hos mænd,

Hæmoglobin pct.	> 90	80—90	70—80	60—70	50—60	< 50
Samlet materiale	32	19	25	10	6	1
Methæmoglobinæmier	26	11	13	4	3	..
Sulfhæmoglobinæmier	4	4	8	2	..	..
Met- og sulfhæmoglobinæmier	2	5	3	5	2	1

Tabel 32. Fordelingen af totalhæmoglobinprocenten i det samlede materiale, i grupperne af isoleret methæmoglobinæmi, isoleret sulfhæmoglobinæmi og kombineret met- og sulfhæmoglobinæmi.

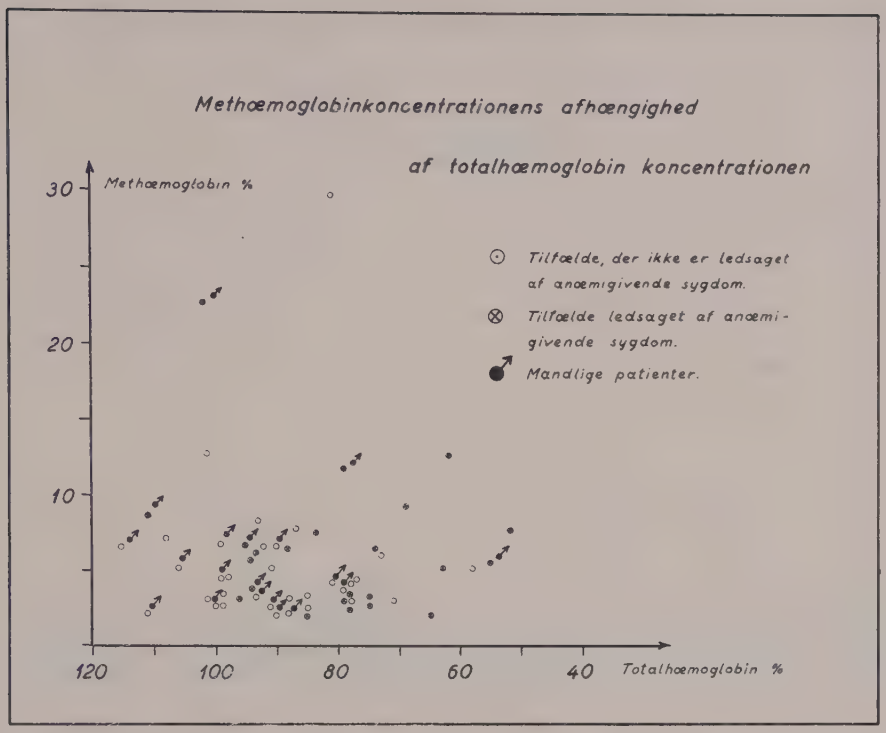
må man tage hensyn til dette forhold ved vurderingen af totalhæmoglobinkoncentrationen hos de undersøgte patienter. Man har derfor kun regnet hæmoglobinprocenter under 80 pct. for sikkert patologiske.

Hos 42 af samtlige patienter konstateredes der anæmi med en totalhæmoglobinkoncentration mindre end 80 pct. Det er imidlertid på det foreliggende materiale vanskeligt at vurdere, om anæmien var et ledsagesymptom ved met- og sulfhæmoglobinæmierne, da en række af de pågældende patienter led af sygdomme, der erfaringsmæssigt ledsages af anæmi. Af sådanne sygdomme fandtes i det forhåndenværende materiale forskellige febrile sygdomme, chronisk polyarthritis, nephropati, myxødem, hæmolytisk icterus, cirrhosis hepatis, metastaserende cancer, melæna og metrorrhagi.

Af de 20 patienter med isoleret methæmoglobinæmi, der havde under 80 pct. af totalhæmoglobin, havde 13 en af disse sygdomme. Af de 10 patienter med isoleret sulfhæmoglobinæmi, der havde under 80 pct. totalhæmoglobin, havde 4 en sådan sygdom. Af de 11 patienter med kombineret met- og sulfhæmoglobinæmi, der havde under 80 pct. totalhæmoglobin, havde 8 en af de nævnte sygdomme.

På figur 28 er for de isolerede methæmoglobinæmiers vedkommende optegnet methæmoglobinkoncentrationens afhængighed af totalhæmoglobinkoncentrationen. Af figuren fremgår, i hvilke tilfælde patienterne led af en sygdom, der kan give anæmi. Det fremgår af figuren, at anæmi i de tilfælde, hvor der ikke var en sådan sygdom, kun sjældent forekom hos patienterne i denne gruppe. Figuren viser desuden, at der ikke var nogen relation mellem methæmoglobinæmiens grad og totalhæmoglobinkoncentrationen.

På figur 29 er for de isolerede sulfhæmoglobinæmiers vedkommende optegnet sulfhæmoglobinkoncentrationens afhængighed af totalhæmoglobinkoncentrationen. De tilfælde, hvor patienterne led af en anæmigivende sygdom, er markeret. Det ses af figuren, at anæmi var et almindeligt fund også i de tilfælde, hvor anden anæmigivende sygdom ikke kunne

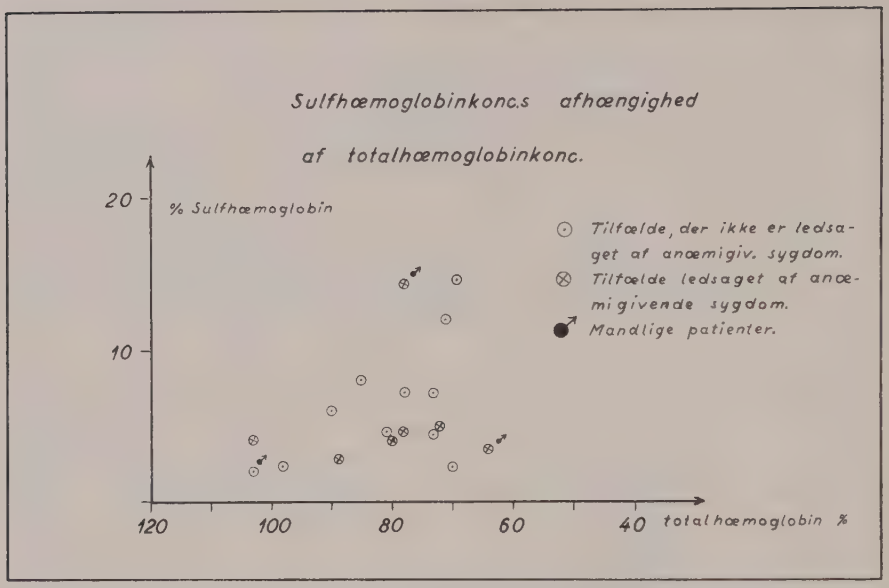


Figur 28. Viser for de isolerede methæmoglobinæmiers vedkommende methæmoglobinkoncentrationens afhængighed af totalhæmoglobinkoncentrationen. Figuren viser desuden de tilfælde, der var ledsaget af en anæmigivende sygdom, og hvilke patienter, der var kvinder, og hvilke, der var mænd.

påvises. Ses bort fra eet tilfælde, syntes det, som om højere sulfhæmoglobinkoncentration ledsagedes af lavere totalhæmoglobinkoncentration.

Figur 30 viser for de kombinerede met- og sulfhæmoglobinæmiers vedkommende afhængigheden mellem koncentrationen af patologisk pigment og totalhæmoglobinkoncentrationen. Blandt patienterne, der ikke led af en anæmigivende sygdom, fandtes kun i 3 tilfælde en anæmi med en hæmoglobinkoncentration under 80 pct. I denne gruppe syntes der ikke at være nogen relation mellem koncentrationen af patologisk pigment og totalhæmoglobinkoncentrationen.

På det foreliggende materiale fandtes således i langt det overvejende antal af isoleret methæmoglobinæmi ingen anæmi som ledsagesymptom. Derimod var anæmi et almindeligt ledsagesymptom ved sulfhæmoglobinæmi. Selv om der ikke foreligger noget bevis, har man tænkt sig muligheden af, at anæmien ved sulfhæmoglobinæmierne skyldes, at de sulfhæmoglobinholdige blodlegemer er mindre resistente end normale røde blodlegemer og derfor ved en hæmolytisk proces forsvinder hurtigere fra

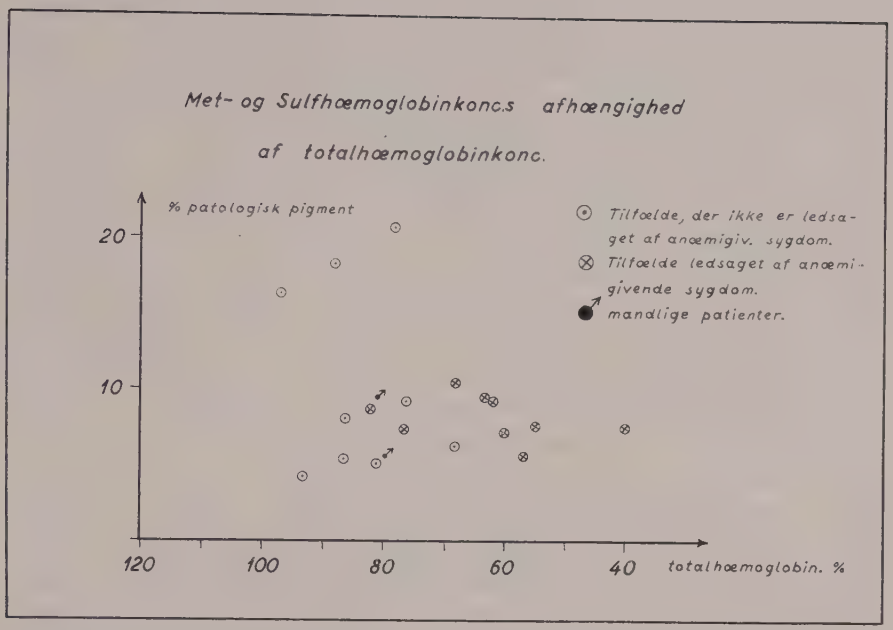


Figur 29. Viser for de isolerede sulfhæmoglobinæmiers vedkommende sulfhæmoglobinkoncentrationens afhængighed af totalhæmoglobinkoncentrationen. Figuren viser desuden de tilfælde, der var ledsaget af en anæmigivende sygdom, og hvilke patienter, der var kvinder, og hvilke, der var mænd.

blodet end normalt. Undersøgelse af en enkelt patient med sulfhæmoglobinæmi tyder, som det nedenfor skal beskrives, i denne retning.

Karakteristisk for cyanose på grund af methæmoglobinæmi er, at den svinder hurtigt efter ophør med medikamentindgiften. Derimod angives sulfhæmoglobinæmi at holde sig i 3—4 måneder. Disse forhold havde man lejlighed til at undersøge på en patient med højt methæmoglobinindhold og på en patient med højt sulfhæmoglobinindhold i blodet.

Patienten med methæmoglobinæmi er i tabel 27 opført som nr. 1. Hun var ved første undersøgelse meget stærkt cyanotisk. Cyanosen var den kølige, gråblå cyanose, der er karakteristisk for medicamental forgiftning. Patienten frembød ikke tegn på cardiopulmonal insufficiens. Ved første undersøgelse fandtes 29.6 pct. methæmoglobin i hendes blod. Patienten hævdede med bestemthed kun at have indtaget få codeiphentabletter, ialt højst 10—12 tabletter de sidste 2 dage inden undersøgelsen. Cyanosen havde udviklet sig i løbet af 1—2 dage. Efter indlæggelsen fik patienten overhovedet ingen medikamenter. Allerede efter eet døgns forløb var cyanosen tydeligt på retur, og efter 3 dages forløb havde patienten normal hudfarve. En ny undersøgelse af blodet på dette tidspunkt viste, at det nu kun indeholdt 0.9 pct. methæmoglobin. Undersøgelsen af denne patient havde således vist, at methæmoglobinæmi svinder på få døgn efter ophør



Figur 30. Viser for de kombinerede met- og sulfhæmoglobinæmiers vedkommende afhængigheden mellem koncentrationen af patologisk pigment og totalhæmoglobinkoncentrationen. Figuren viser desuden, hvilke tilfælde, der var ledsaget af en anæmigivende sygdom, og hvilke patienter, der var kvinder, og hvilke, der var mænd.

med medikamentindgiften. Det forekom gådefuldt, at denne patient, der havde indtaget ganske få tabletter, havde fået en så betydelig methæmoglobinæmi. Man tænkte sig: 1. at patienten var en særlig god methæmoglobindanner, 2. at de tabletter, patienten havde indtaget, var forurenet med et kraftigt methæmoglobindannende stof.

Ad 1. Hvis patienten var en særlig god methæmoglobindanner, kunne årsagen tænkes at være, at hendes blod indeholdt abnorme mængder »foetalt hæmoglobin«. Undersøgelsen for foetalt hæmoglobin i hendes blod viste imidlertid, at dette ikke var tilfældet (undersøgelsen udført af *Kornerup*).

Ad 2. For at undersøge om de pågældende tabletter havde en lignende stærk methæmoglobindannende effekt på en anden patient, udførtes et forsøg, hvor man gav 2 af tabletterne til en normal forsøgsperson og undersøgte blodet efter 2 timers forløb, hvor som vist i forrige kapitel en eventuel methæmoglobindannelse ville have nået maximum. Hos denne person kunne ikke påvises nogen methæmoglobindannelse.

Endelig udførtes kontrolforsøg på den oprindelige patient. Hun fik 2 af tabletterne, og hendes blod undersøgtes efter 2 timers forløb. Hun blev ved dette forsøg ikke cyanotisk, og man kunne ikke påvise methæmoglobin

i hendes blod. Det lykkedes således ikke ved disse undersøgelser at finde nogen forklaring på patientens methæmoglobinæmi. Eneste mulighed syntes at være, at patienten alligevel enten havde indtaget tabletter af en anden art end de opgivne eller også en større dosis end oplyst.

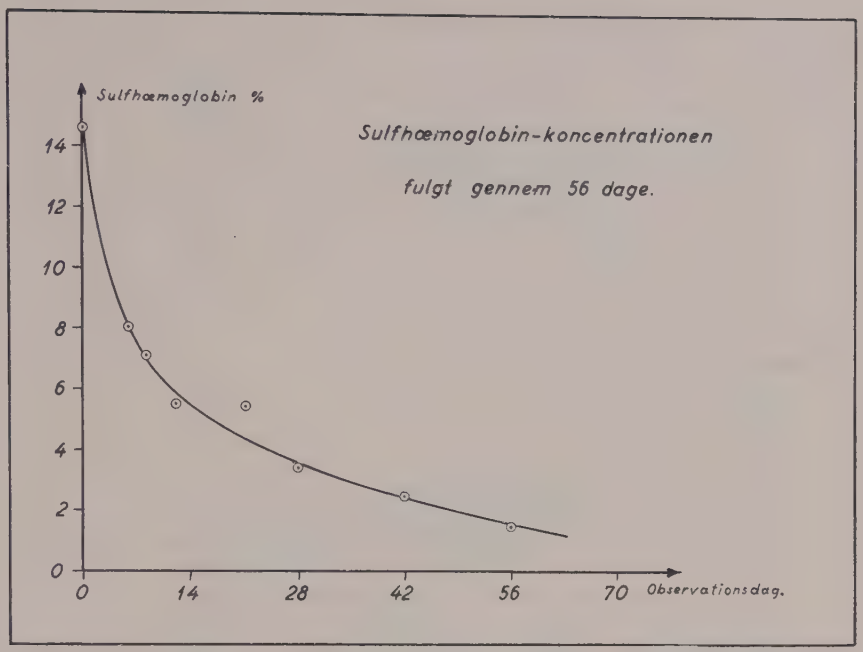
Patienten, der i tabel 27 er opført som nr. 58, havde en betydelig sulfhæmoglobinæmi. Denne patient havde man også lejlighed til at undersøge nøjere. Hun blev indlagt på grund af svimmelhed, hovedpine og træthed. Ved indlæggelsen var hun kraftigt cyanotisk. Cyanosen var den kølige gråblå, som er karakteristisk for medicamentel forgiftning. Der var ingen tegn på cardiopulmonal insufficiens. Det oplystes, at patienten gennem lang tid havde lidt af obstipation og derfor gennem 4—5 måneder regelmæssigt havde indtaget Carlsbadersalt. Desuden havde hun de sidste 2—3 måneder taget codyltabletter 6—10 daglig på grund af hovedpine.

Ved undersøgelse af hendes blod umiddelbart efter indlæggelsen fandtes 69 pct. totalhæmoglobin og 14.6 pct. sulfhæmoglobin. Patienten havde således en anæmi. Ved undersøgelsen af patienten fandtes ingen anden årsag til anæmien end den tilstedeværende sulfhæmoglobinæmi. Sulfhæmoglobinæmien lod sig forklare ved det langvarige forbrug af Carlsbadersalt og det store forbrug af codyl.

Denne patient fulgtes i 56 dage. Man ophørte straks med indgiften af Carlsbadersalt og codyl, fjerdedagen blev der givet en blodtransfusion. Anden behandling fik patienten ikke under hospitalsopholdet. I løbet af de 56 dage blev der taget ialt 8 blodprøver, der undersøgtes for totalhæmoglobin og sulfhæmoglobin. Resultaterne af undersøgelserne ses i tabel 33. På figur 31 er sulfhæmoglobinkoncentrationerne optegnet i relation til tiden efter første undersøgelse. Der er anvendt almindeligt millimeterpapir. Som det ses, var der et hurtigt fald i sulfhæmoglobinkoncentrationen de første dage, derefter et langsommere. Sulfhæmoglobinkoncentrationen var halveret på 10 dage. Efter 56 dages forløb var der endnu 1.5 pct. sulfhæmoglobin tilbage. Man optegnede derefter sulfhæmoglobinkoncentrationerne i relation til tiden efter første undersøgelse på semilogaritmisk millimeterpapir (figur 32). Det ses, at sulfhæmoglobinkoncentrationen faldt hurtigt efter kurven

Dag efter 1. undersøgelse	0	6	8	13	20	28	42	56
	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.	pct.
Totalhæmoglobin	69	65	69	75	83	74	77	75
Sulfhæmoglobin	14,6	8,1	7,1	5,5	5,5	3,5	2,5	1,5

Tabel 33. Resultatet af undersøgelse for totalhæmoglobin og sulfhæmoglobin gennem 56 dage på patient nr. 58.

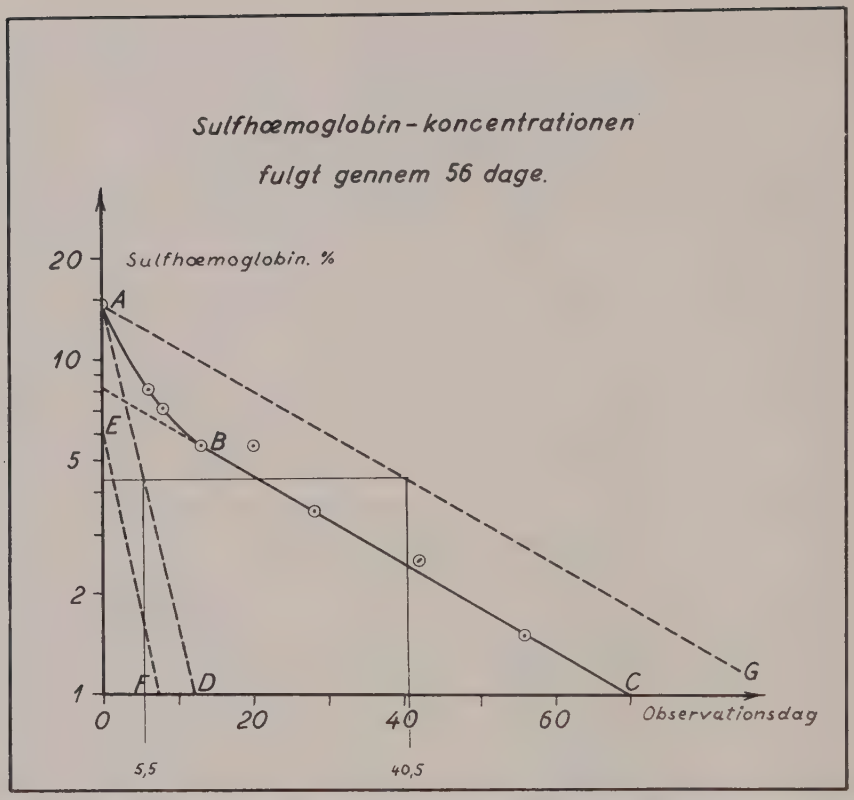


Figur 31. Viser for patient nr. 58 sulfhæmoglobinkoncentrationen fulgt gennem 56 dage.

AB de første dage og derefter langsommere efter kurven BC. Figuren viser, at sulfhæmoglobinsvindet var resultatet, dels af en hurtig destruktion af sulfhæmoglobinholdige røde blodlegemer med en middellevetid på 5.5 dage, dels af en langsom destruktion af sulfhæmoglobinholdige røde blodlegemer med en middellevetid på 40.5 dage. Sulfhæmoglobinsvindet, der er repræsenteret ved kurven AB, er resultatet dels af den langsomme destruktion, der er repræsenteret ved linien BC, dels af en hurtig destruktion, der er repræsenteret ved linien AD. Denne linie er konstrueret ved parallelforskydning af linien EF gennem udgangspunktet A. EF er konstrueret ved på ordinaten at afsætte afstanden mellem punkterne på kurven AB og kurven BC og på abscissen tiden. Linien AG er konstrueret ved at parallelforskyde linien BC gennem udgangspunktet A. Middellevetiden for de sulfhæmoglobinholdige røde blodlegemer er fundet som angivet af *Dornhorst* (1951) ved på abscissen at aflæse tiden, hvor 37 pct. af de pågældende blodlegemer endnu var tilbage i blodet.

Der fandtes hos denne patient udover anæmien og det hurtige svind af sulfhæmoglobinæmien ingen tegn på hæmolyse. Således var icterusindex og reticulocyttal normale. Efter de 56 dages forløb havde patienten det udmærket, og kontrollen med hende ophørte.

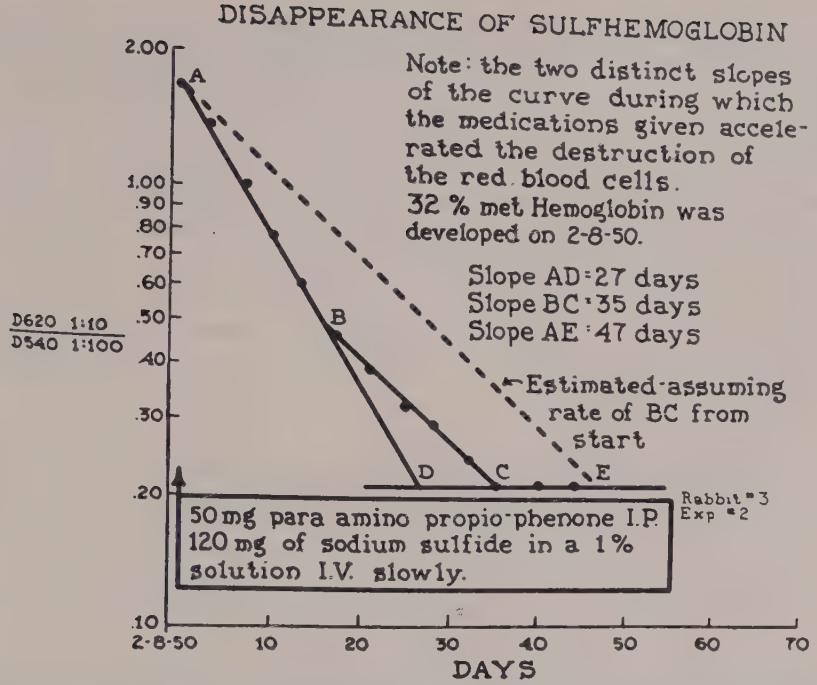
Disse resultater er i uoverensstemmelse med *Jopes fund* (1946). Han



Figur 32. Viser for patient nr. 58 sulfhæmoglobinkoncentrationen fulgt gennem 56 dage.

fandt som tidligere nævnt, at sulfhæmoglobinæmiens varighed er den samme som de røde blodlegemers normale levetid. Hos 7 trinitrotoluolarbejdere fandt han sulfhæmoglobinæmi og fandt varigheden af denne til 120 dage. Ved anvendelse af almindeligt millimeterpapir fandt han, at sulfhæmoglobinkoncentrationernes afhængighed af tiden var retliniet.

Derimod ligner fundet de resultater, *Dod og medarbejdere* (1951) opnåede i dyreforsøg. De fremkaldte sulfhæmoglobinæmi på kaniner og mus ved samtidig indgift af svovl og en methæmoglobindanner. I forsøg med 7 normale kaniner og med 14 normale mus fandtes den gennemsnitlige varighed af sulfhæmoglobinæmi til henholdsvis 43 og 19.5 dage. Ved anvendelse af semilogaritmisk millimeterpapir fandtes, at sulfhæmoglobinkoncentrationen var retliniet afhængig af tiden. De fundne tider 43 og 19.5 dage svarede til de røde blodlegemers levetid hos normale kaniner og mus bestemt ved brug af radioaktivt jern. Hos 3 normale kaniner fandtes afvigende forhold, idet sulfhæmoglobinæmiens varighed hos disse kun var henholdsvis 9, 18 og 26 dage. Dette antog man var udtryk for en kortere



Figur 33. Efter *Dod, Bierman* og *Shimkin* (1951). Sulfhæmoglobinkoncentrationen hos en kanin, der blev behandlet med natriumsulfid og paraaminopropiofenon, fulgt gennem 40 dage.

overlevningstid af de sulfhæmoglobinholdige røde blodlegemer end normalt. På en kanin fremkaldtes sulfhæmoglobinæmi ved samtidig injektion af paraaminopropiofenon og natriumsulfid. Sulfhæmoglobinæmien svandt hos denne kanin på 35 dage. Forløbet af sulfhæmoglobinsvindet, optegnet på semilogaritmisk millimeterpapir (figur 33), svarede ganske til forløbet af kurven for den nævnte patient, og viste, at sulfhæmoglobinsvindet var resultatet af 2 processer, en hurtigere og en langsommere, svarende til en overlevningstid for de sulfhæmoglobinholdige røde blodlegemer på henholdsvis 27 og 47 dage. De resultater, *Dod* og medarbejdere opnåede, tyder på, at der var 2 slags hæmoglobin i kaninernes blodlegemer. At der forekommer 2 slags hæmoglobin i normalt kaninblod er vist af *Schapira og Kruh* (1951).

Lignende forhold er ikke tidligere beskrevet hos mennesker. Dog nævner *Evans og medarbejdere* (1950), at de samme stoffer, der kan give anledning til met- eller sulfhæmoglobinæmi, kan bevirke, at der kommer en hæmolyse af de met- eller sulfhæmoglobinholdige røde blodlegemer, som derved får en kortere overlevningstid end normalt. Der gøres ikke nærmere rede for mekanismen ved denne hæmolyse.

Som tidligere nævnt kan der hos voksne under særlige omstændigheder foruden det normale hæmoglobin findes »foetalt hæmoglobin«. Undersøgelserne af den omtalte patients blod for sulfhæmoglobin tyder på, at hendes blod indeholdt to slags blodlegemer, dels blodlegemer med kort middellevetid og dels blodlegemer med lang middellevetid. Der syntes at have været flest sulfhæmoglobinholdige blodlegemer med kort middellevetid. Man tænkte sig, at de røde blodlegemer med kort middellevetid indeholdt »foetalt hæmoglobin«, idet middellevetiden for sådanne blodlegemer er af samme størrelsesorden som den fundne (*Faber, Keiding og Kornerup* 1956). Ved de første undersøgelser var man ikke opmærksom på denne mulighed. Patientens blod blev derfor ikke straks undersøgt for »foetalt hæmoglobin«.

Man indkaldte patienten til efterundersøgelse 2½ år senere. Hun var på dette tidspunkt fuldstændig rask, og der var ikke antydning af cyanose. Hun havde en totalhæmoglobinprocent på 101, der var intet met- eller sulfhæmoglobin i hendes blod, icterusindex og reticulocyttal var normale. Undersøgelse for »foetalt hæmoglobin« viste et indhold på 0.3 pct., der må anses for normalt. Blodundersøgelserne viste således ikke tegn på abnorme forhold, specielt ikke tegn på hæmolytiske processer eller på tilstedeværelse af abnorme blodpigmenter. Dette udelukker dog ikke, at patientens blod ved de første undersøgelser kan have indeholdt »foetalt hæmoglobin«.

Undersøgelserne af denne patient viste, at hun efter indtagelse af store mængder Carlsbadersalt og codyl havde fået en betydelig sulfhæmoglobinæmi ledsaget af anæmi. Ophør med indtagelse af medikamenterne helbredte hende fuldstændigt, idet både sulfhæmoglobinæmien og anæmien svandt. Undersøgelserne tydede på, at de sulfhæmoglobinholdige røde blodlegemer havde en kortere overlevningstid end normalt, og at dette sandsynligvis var forklaringen på hendes anæmi. I hvert fald lykkedes det ikke at påvise anden sygdom hos patienten, og kontrolundersøgelsen 2½ år efter første undersøgelse viste, at hun var fuldstændig helbredt.

At anæmi særlig hyppigt fandtes blandt patienterne med sulfhæmoglobinæmi, antog man, kunne forklares på samme måde som hos denne patient. Man må efter dette antage, at de sulfhæmoglobinholdige røde blodlegemer i hvert fald i nogle tilfælde har en kortere overlevningstid end normale røde blodlegemer.

Når methæmoglobinæmi kun sjældent var ledsaget af anæmi, antog man, at det skyldes, at methæmoglobinet hurtigt svinder fra blodet og ikke influerer på de røde blodlegemers overlevningstid.

Opgørelsen i dette kapitel viser, at forekomst af methæmoglobinæmi og sulfhæmoglobinæmi er ret hyppig. Blandt de hyppigste medikamenter,

der giver anledning til dannelsen af abnorme blodpigmenter, er phenacetin, acetanilid, sulfamethizol og sulfater.

Blandt de sygdomme, der særlig giver anledning til indtagelse af disse medikamenter, er chronisk polyarthritis, arthroser, myoser, cephalalgi og psykiske, især depressive lidelser.

Efter phenacetin, acetanilid og sulfamethizol opstår hyppigst methæmoglobinæmi, men de samme medikamenter kan også fremkalde sulfhæmoglobinæmi enten som isoleret fænomen eller som ledsagefænomen til methæmoglobinæmi.

Sulfat kan dels alene dels sammen med de øvrige medikamenter være årsag til sulfhæmoglobinæmi.

Tendensen til opståelse af sulfhæmoglobinæmi synes noget større, når patienterne samtidig har en tarmlidelse.

Blandt de undersøgte var der et betydeligt flertal af kvindelige patienter. Alle aldersklasser mellem 25 og 83 år var ligeligt repræsenteret.

Anæmi var et hyppigt ledsagesymptom ved sulfhæmoglobinæmierne, men sjældent ved methæmoglobinæmierne.

Methæmoglobinæmi svandt hurtigt efter ophør med indtagelse af det cyanosefremkaldende medikament. Sulfhæmoglobinæmi holdt sig derimod gennem lang tid. Ved undersøgelse af en enkelt patient med sulfhæmoglobinæmi lykkedes det ikke som i *Jopes* undersøgelse at finde sulfhæmoglobinæmiens varighed identisk med de røde blodlegemers levetid. Derimod tydede undersøgelserne af denne patient på, at de sulfhæmoglobinholdige røde blodlegemer havde en kortere overlevningstid end normalt.

RESUMÉ

1. kapitel. Medicamentel cyanose.

På grundlag af litteraturen gennemgås årsagerne til cyanose. Disse er optræden af abnorme mængder reduceret hæmoglobin i kapillærblodet ved cardiopulmonal insufficiens, methæmoglobinæmi eller sulfhæmoglobinæmi.

Methæmoglobin er et iltningsprodukt af oxyhæmoglobin. Det dannes i den normale organisme til stadighed, men samtidig reduceres det dannede methæmoglobin enzymatisk. Der findes derfor kun spor af methæmoglobin i blod fra normale.

Ved congenit familiær methæmoglobinæmi mangler de methæmoglobinreducerende enzymer. Den spontane methæmoglobindannelse bevirker derfor en konstant methæmoglobinæmi.

Hos normale kan methæmoglobinæmi kun opstå efter indtagelse af methæmoglobindannende stoffer. Disse kan indtages som medikamenter, ved uheld i industrien eller som forurening af føden eller drikkevandet. Af de almindeligt anvendte medikamenter er phenacetin, acetanilid og sulfonamider methæmoglobindannere.

Spædbørn synes at være særlig gode methæmoglobindannere, formentlig på grund af tilstedeværelse af foetalt hæmoglobin. Dette omdannes særlig let til methæmoglobin.

Lettere grader af methæmoglobinæmi giver udover cyanose ingen symptomer. Ved sværere methæmoglobinæmier kan der opstå hovedpine, svimmelhed, døsighed, dyspnoe og angina pectoris. Omdannes 70—80 pct. af hæmoglobinet til methæmoglobin, indtræder døden.

I de lettere tilfælde af methæmoglobinæmi er behandling ikke påkrævet. Methæmoglobinet svinder hurtigt efter ophør med indtagelsen af det methæmoglobindannende stof. Svære methæmoglobinæmier kan behandles med intravenøs injektion af metylenblåt.

Som en særlig form er opstillet den enterogene methæmoglobinæmi hos patienter med chronisk tarmsygdom. Det antages, at årsagen til methæmoglobindannelsen er resorption af nitrit fra tarmen dannet ved bakterielle processer.

Sulfhæmoglobin dannes af oxyhæmoglobin ved påvirkning med svovlbrinte. Det findes ikke i den normale organisme, og der findes ingen mekanisme til at fjerne sulfhæmoglobin.

Sulfhæmoglobinæmi kan opstå spontant (enterogen sulfhæmoglobinæmi) hos patienter med tarmlidelse, hvor der sker en abnorm stærk svovlbrintedannelse i tarmen ved bakterielle processer. Resorption af svovlbrinten antages af være årsag til sulfhæmoglobinæmien.

Sulfhæmoglobinæmi kan desuden opstå efter indtagelse af svovl eller sulfat eller efter indtagelse af methæmoglobindannere som phenacetin, acetanilid eller sulfonamider. En særlig stærk sulfhæmoglobindannelse kommer ved samtidig indtagelse af svovl og en methæmoglobindanner.

Sulfhæmoglobinæmi når sjældent sværere grader, men kan dog foruden cyanose give anledning til uspecifike almensymptomer. Efter ophør med indtagelse af de sulfhæmoglobindannende stoffer vil der gå flere måneder, før sulfhæmoglobinæmien svinder. Sulfhæmoglobinæmiens varighed vil i de fleste tilfælde være identisk med de røde blodlegemers normale overlevningstid.

2. kapitel. Kvantitativ hæmoglobinbestemmelse.

Til kvantitativ hæmoglobinbestemmelse anvendtes dels gasometriske dels spektrofotometriske metoder. De gasometriske metoder var *van Slykes og Neills* metode til iltkapacitetsbestemmelse og *van Slyke og Hillers* metode til kuliltekapacitetsbestemmelse. Ved de spektrofotometriske bestemmelser anvendtes *Hunters* teknik. Der benyttedes dels en metode til bestemmelse af oxyhæmoglobin, dels en metode til bestemmelse af reduceret hæmoglobin.

Der udførtes forsøg med *Hunters* teknik. På fortyndinger af blod, hvis iltkapacitet var bestemt gasometrisk, måltes extinktionerne ved 575 mμ, og det vistes, at extinktionen for oxyhæmoglobin var retliniet afhængig af blodfortyndingernes iltkapacitet. Samme forsøg udførtes med blodfortyndinger, der holdtes reduceret ved tilsætning af natriumditionit. Extinktionerne måltes ved 555 mμ, og det vistes, at extinktionen for reduceret hæmoglobin var retliniet afhængig af blodfortyndingernes iltkapacitet. Man kunne således bestemme en blodprøves iltkapacitet, enten ved at anvende iltet blod og måle extinktionen ved 575 mμ eller ved at anvende reduceret blod, måle extinktionen ved 555 mμ og aflæse på kurverne.

På blod fra 2 normale forsøgspersoner foretoges samtidig gasometrisk iltkapacitetsbestemmelse, gasometrisk kuliltekapacitetsbestemmelse og spektrofotometrisk iltkapacitetsbestemmelse. Der påvistes overensstemmelse mellem de anvendte metoder.

3. kapitel. Kvalitativ og kvantitativ methæmoglobinbestemmelse.

Methæmoglobin har et karakteristisk absorptionsbånd ved 630 mμ. Påvisning af dette bånd tjener til grov kvalitativ prøve for methæmoglobin. Til kvantitativ methæmoglobinbestemmelse anvendtes dels en gasometrisk metode, dels spektrofotometriske metoder. Den gasometriske metode var *van Slyke og Hillers* metode til bestemmelse af aktivt hæmoglobin og totalhæmoglobin. De spektrofotometriske metoder var dels en metode, hvor man måler extinktionen ved 630 mμ før og efter cyanidtilsætning og derved får et relativt mål for prøvens methæmoglobinindhold, dels en metode angivet af *Hunter,* hvor man med måling af extinktionen ved 630 mμ og anvendelse af *Hunters* nomogram kan finde koncentrationen af methæmoglobin. Ved de spektrofotometriske metoder findes totalhæmoglobin efter reduktion af methæmoglobin til reduceret hæmoglobin.

Der fremstilledes en række methæmoglobinholdige blodprøver ved tilsætning af varierende mængde natriumnitrit til blod, hvis totalkapacitet i forvejen var bestemt. På 18 blodprøver bestemtes methæmoglobinindholdet dels gasometrisk og dels med de to nævnte spektrofotometriske metoder. Det vistes, at den gasometriske og den spektrofotometriske metode med cyanidtilsætning gav overensstemmende resultater. Derimod gav *Hunters* metode for lave værdier for methæmoglobinindholdet.

4. kapitel. Kvalitativ og kvantitativ sulfhæmoglobinbestemmelse.

Spektroskopisk påvisning af sulfhæmoglobins karakteristiske absorptionsbånd ved 620 mμ anvendes til grov kvalitativ prøve for sulfhæmoglobin. Der er kun beskrevet få metoder til kvantitativ sulfhæmoglobinbestemmelse. De bedste af disse er to spektrofotometriske metoder af henholdsvis *Drabkin og Austin* og af *Lemberg og medarbejdere.* Disse metoder er udarbejdet på basis af spektrofotometriske målinger af en række sulfhæmoglobinholdige blodprøver og tilnærmelsesvis bestemmelse af sulfhæmoglobinets specifike extinktioner ved forskellige bølgelængder. *Lemberg og medarbejdere* gjorde opmærksom på, at der ved fremstilling af sulfhæmoglobin i laboratoriet i regelen samtidig dannes choleglobin. De angav metoder til bestemmelse af choleglobin og til bestemmelse af choleglobin og sulfhæmoglobin i samme opløsning.

Egne undersøgelser: Sulfhæmoglobinholdigt blod blev fremstillet ved at gennemboble blod med svovlbrinte. Der dannedes derved sulfhæmoglobin og en mindre mængde choleglobin. For at afgøre, om der dannedes hæmoglobinnedbrydningsprodukter med frigørelse af jern ved siden af choleglobin og sulfhæmoglobin, undersøgtes 16 blodprøver for mængden af

hæmoglobinbunden jern før og efter svovlbrintetilsætning. Dette viste sig uændret.

På 30 sulfhæmoglobinholdige blodprøver bestemtes experimentelt de specifike extinktioner for sulfhæmoglobin og kuliltesulfhæmoglobin for koncentrationen 1 millimol/liter ved henholdsvis 620 og 617 mμ til 13.0—13.2 og 16.1—16.6. På 16 sulfhæmoglobinholdige blodprøver måltes absorptionskurverne mellem 500 og 700 mμ. På basis af disse konstrueredes en teoretisk kurve for rent sulfhæmoglobin.

Ved hjælp af de experimentelt bestemte optiske konstanter lykkedes det at udarbejde en teknik til kvantitativ sulfhæmoglobinbestemmelse i blandinger af sulfhæmoglobin og oxyhæmoglobin eller sulfhæmoglobin og reduceret hæmoglobin. Metoden var også anvendelig ved tilstedeværelse af methæmoglobin.

Der udførtes på 20 sulfhæmoglobinholdige blodprøver med kendt totaliltkapacitet sulfhæmoglobinbestemmelse dels ved gasometrisk analyse, hvor prøvernes iltkapacitet bestemtes, og sulfhæmoglobin bestemtes som difference mellem totalkapaciteten og prøvens iltkapacitet, dels ved spektrofotometrisk analyse, som angivet af *Lemberg,* og dels med den udarbejdede teknik. Det viste sig, at de gasometriske analyser og analyserne med egen teknik gav overensstemmende resultater, medens *Lembergs* metode gav for lave resultater for totalhæmoglobin. Samme resultat fandtes ved anvendelse af blod fra patienter med sulfhæmoglobinæmi.

Den udarbejdede teknik har den fordel fremfor *Lembergs,* at den også kan anvendes til sulfhæmoglobinbestemmelse, når der er methæmoglobin i prøven.

5. kapitel. Teorier om carbhæmoglobinforbindelser og paraaminofenol som årsag til medicamentel cyanose.

1942 fremsatte *Kallner* den teori, at medicamentel cyanose opstår ved tilstedeværelse af kuldioxyd og skyldes en mørktfarvet komplex forbindelse af carbhæmoglobin og det indtagne medikament.

Egne undersøgelser: Ved tilsætning af sulfapyridin eller acetanilid til blod påvistes en øget absorption i den røde del af spektret. Gennembobledes blodet derefter med kuldioxyd, øgedes absorptionen yderligere. Iltgennembobling øgede ligeledes absorptionen. Disse prøver centrifugeredes i 3 minutter i centrifuge med 2000 omdrejninger per minut. *Kallners* forsøg lod sig således reproducere også efter centrifugering i almindelig laboratoriecentrifuge. Da årsagen til absorptionsstigningen kunne være uklarheder i blodprøverne, udførte man derfor forsøg med blodprøver, der centrifugeredes i 3 minutter i centrifuge med 17000 omdrejninger per minut.

Disse prøver viste ingen absorptionsændring ved tilsætning af sulfanilamid eller acetanilid. Gennembobling med kuldioxyd ændrede heller ikke absorptionen. Heller ikke ved at anvende frisk taget venøst blod med højt kuldioxydindhold kunne man påvise nogen absorptionsændring ved tilsætning af sulfanilamid eller acetanilid, når blot prøverne var grundigt centrifugeret. Forsøgene tydede på, at den øgede absorption, der var iagttaget i forforsøgene, skyldtes uklarheder, der kun vanskeligt lod sig centrifugere bort.

For at undersøge, om der ved siden af methæmoglobin var andre stoffer med en abnorm absorption i den røde del af spektret, udførtes 6 forsøg med methæmoglobinholdigt blod, hvor man optegnede absorptionskurverne mellem 500 og 700 mμ. Samtidig beregnedes absorptionskurverne under forudsætning af, at prøverne kun indeholdt oxyhæmoglobin og methæmoglobin. De iagttagne kurver svarede alle i deres forløb til kurver for blandinger af oxyhæmoglobin og methæmoglobin, og afveg ikke mere fra de beregnede kurver end svarende til usikkerhed på methæmoglobinbestemmelsen. Samme resultat fandtes ved undersøgelse af blod fra en patient med methæmoglobinæmi. Disse forsøg viste, at blodprøverne ikke indeholdt anden abnormt absorberende bestanddel end methæmoglobin. Tilstedeværelsen af methæmoglobin forklarede således fuldt ud de iagttagne farveændringer i den røde del af spektret.

Young og Wilson angav 1926, at den medicamentelle cyanose skyldtes ophobning i blodet af iltningsprodukter af paraaminofenol. Egne undersøgelser viste, at paraaminofenol er en kraftig methæmoglobindanner, og at farveændringer i blodet efter tilsætning af paraaminofenol fuldt ud kan forklares ved den dannede mængde methæmoglobin.

6. kapitel. Humane forsøg med methæmoglobin- og sulfhæmoglobindannende stoffer.

Ved undersøgelse af blod fra 18 normale personer fandtes mindre end 1 pct. methæmoglobin og intet sulfhæmoglobin.

Der udførtes forsøg med de methæmoglobindannende stoffer: chloranilin, chloracetanilid, chlornitrobenzol og nitrophenetol. Af disse viste chloranilin sig at være den bedste methæmoglobindanner. 12 personer, der fik 10 mg chloranilin, dannede fra 2.7 til 40.1 pct. methæmoglobin i løbet af 2 timer. Efter 24 timers forløb var methæmoglobinæmien næsten svundet. Ved belastning med 5 mg chloranilin til 20 personer i alderen 31—80 år fandtes stor individuel variation i methæmoglobindannelsen. Der påvistes ingen aldersvariation i evnen til methæmoglobindannelse.

På 2 personer forsøgte man at fremkalde chronisk methæmoglobinæmi

ved daglig indgift af 2.5 mg chloranilin. Der kom methæmoglobindannelse i tilslutning til hver tabletindgift, men methæmoglobinet svandt få timer efter indtagelsen, således at chronisk methæmoglobinæmi kun lod sig opretholde ved stadig tabletindgift.

Let sulfhæmoglobinæmi fremkaldtes på 3 personer ved indgift af 10 g solutio magnesii sulfatis 3 gange daglig gennem 5½ uge. Ved samtidig indgift af 10 g solutio magnesii sulfatis 3 gange daglig og 2½ mg chloranilin 2 gange daglig gennem flere uger fremkaldtes hos 3 personer sulfhæmoglobinæmi med 7—11.1 pct. sulfhæmoglobin i blodet.

For at undersøge, om man kunne hindre sulfhæmoglobindannelsen efter indgift af magniumsulfat og chloranilin ved at hindre svovlbrintedannelsen i tarmen, udførtes forsøg, hvor tarmen steriliseredes ved indgift af aureomycin inden indgift af magniumsulfat og chloranilin. Det vistes i 6 forsøg, at sulfhæmoglobindannelsen hindredes ved denne fremgangsmåde. Derimod var methæmoglobindannelsen efter chloranilin uafhængig af forudgående aureomycinbehandling.

For at undersøge, om methæmoglobinindholdet i blod ændres, når blodprøven henstår nogen tid, inden analysen finder sted, undersøgtes normalt blod hurtigt efter blodtagningen og efter 24 timers forløb. Det vistes, at henstod blodet i ufortyndet tilstand, kom der ingen methæmoglobindannelse i løbet af 24 timer. Henstod det derimod i fortynding 1/50, kom der en rigelig methæmoglobindannelse. Methæmoglobinholdigt blod undersøgtes ½, 24, 48 og 72 timer efter blodtagningen. Henstod blodet ved + 3 grader, kom der et betydeligt methæmoglobinsvind allerede efter 24 timers forløb; henstod blodet derimod ved ÷ 20 grader, holdt methæmoglobinindholdet sig nogenlunde uforandret gennem 48 timer.

Til undersøgelse for methæmoglobin kunne man anvende både heparin-, oxalat- og citratblod.

7. kapitel. Undersøgelse af patienter med methæmoglobinæmi og sulfhæmoglobinæmi.

I en 2½-årig periode fandtes på Sygekasselægernes Organisations Laboratorium ved undersøgelse af ca. 200 blodprøver fra patienter med formodet medicamental cyanose i 93 tilfælde patologiske mængder met- eller sulfhæmoglobin, d. v. s. mindst 2 pct. patologisk blodpigment.

Der fandtes 57 tilfælde af isoleret methæmoglobinæmi, 18 tilfælde af isoleret sulfhæmoglobinæmi og 18 tilfælde af kombineret met- og sulfhæmoglobinæmi. En gennemgang af journalerne viste, at årsagen i regelen var de gængse smertestillende midler indtaget på grund af chroniske smertende lidelser i bevægelsessystemet (30 tilfælde) eller på grund af andre

smerter. En hyppig årsag var lignende midler indtaget for psykiske lidelser (26 tilfælde). Sulfamethizol var indgivet til 3 på grund af purulent meningitis og til 9 på grund af pyuri. 5 patienter med sulfhæmoglobinæmi havde indtaget sulfat på grund af obstipation.

Fælles for de indtagne medikamenter var, at de indeholdt enten phenacetin, acetanilid, sulfonamid eller sulfat. Af patienter med isoleret methæmoglobinæmi havde 40 indtaget phenacetin, 7 acetanilid, 2 sulfamethizol, og 3 nægtede at have indtaget medikamenter. Af patienter med isoleret sulfhæmoglobinæmi havde 11 indtaget phenacetin, 2 acetanilid og 5 sulfat. Af patienter med kombineret met- og sulfhæmoglobinæmi havde 17 indtaget phenacetin, 2 acetanilid, 2 sulfamethizol og 2 sulfater.

Tarmforstyrrelser, obstipation eller diarrhoe fandtes hos 20 af 57 patienter med isoleret methæmoglobinæmi, hos 9 af 18 patienter med isoleret sulfhæmoglobinæmi og hos 14 af 18 patienter med kombineret met- og sulfhæmoglobinæmi.

Hos 42 af de 93 patienter fandtes anæmi med en hæmoglobinprocent under 80 pct. 25 af disse havde foruden met- eller sulfhæmoglobinæmi en anæmigivende sygdom. Anæmi var et sjældent fund ved methæmoglobinæmi, men fandtes hyppigt ved sulfhæmoglobinæmi.

Methæmoglobinæmi svandt på et til to døgn efter ophør med indtagelse af det methæmoglobinfremkaldende medikament. Derimod holdt sulfhæmoglobinæmi sig gennem flere måneder. Ved undersøgelse af een patient fandtes, at sulfhæmoglobinæmien holdt sig i mere end 56 dage. Sulfhæmoglobinkoncentrationen faldt hos denne patient hurtigt de første dage, derefter langsomt gennem flere uger. Undersøgelser af denne patient tydede på, at nogle af de sulfhæmoglobinholdige røde blodlegemer havde en kortere overlevningstid end normale røde blodlegemer.

SUMMARY

Studies on Methaemoglobin and Sulphhaemoglobin with Particular Reference to Drug-Induced Cyanosis.

Chapter 1. Drug-induced Cyanosis.

On the basis of the literature the cause of cyanosis are reviewed: Abnormal quantities of reduced haemoglobin in the capillary blood in cardio-pulmonary insufficiency, methaemoglobinaemia, or sulphhaemoglobinaemia.

Methaemoglobin is an oxidation product of oxyhaemoglobin. Its formation in the organism is a constant process, but at the same time enzymatic breakdown takes place. In blood from normal persons, therefore, there are only traces of methaemoglobin.

In congenital familial methaemoglobinaemia, the methaemoglobin-reducing enzymes are absent. Consequently, the spontaneous formation of methaemoglobin leads to constant methaemoglobinaemia.

In normal subjects, methaemoglobinaemia can only arise after the intake of methaemoglobin-forming substances. Such substances may be administered as therapeutic agents; they may also be ingested in industrial accidents or as a contamination of the food or drinking water. Among commonly used drugs, phenacetin, acetanilide, and sulphonamides form methaemoglobin.

Infants appear to be particularly prone to form methaemoglobin, presumably due to the presence of foetal heamoglobin which is easily converted into methaemoglobin.

Apart from cyanosis, the mild degrees of methaemoglobinaemia do not give rise to symptoms. In more severe cases there may be headache, dizziness, drowsiness, dyspnoea, and angina pectoris. If 70—80 % of the haemoglobin is converted into methaemoglobin, death ensues.

Mild cases do not require treatment. The methaemoglobin rapidly disappears after the methaemoglobin-forming substances have been withdrawn. Severe cases may be treated by intravenous injection of methylene blue.

A special variety is enterogenic methaemoglobinaemia in patients with chronic intestinal disease. The cause of methaemoglobinaemia in these cases is assumed to be intestinal absorption of nitrite formed by bacterial processes.

Sulphhaemoglobin is formed from oxyhaemoglobin by the action of hydrogen sulphide. It is not present in the normal organism, and there is no mechanism which can remove sulphhaemoglobin.

Sulphhaemoglobin may arise spontaneously (enterogenic sulphhaemoglobinaemia) in patients with intestinal diseases, when bacterial processes give rise to abnormally high intestinal hydrogen sulphide formation. Absorption of the hydrogen sulphide is assumed to be the cause of sulphhaemoglobinaemia.

Furthermore, sulphhaemoglobinaemia may arise following ingestion of sulphur or sulphate or of methaemoglobin-forming substances, such as phenacetin, acetanilide, or sulphonamides. A particularly intensive formation of sulphhaemoglobin is caused by the simultaneous intake of sulphur and a methaemoglobin-forming substance.

Sulphhaemoglobinaemia seldom reaches severe degrees, but in addition to cyanosis it may give rise to non-specific manifestations. It may persist for months after withdrawal of the sulphhaemoglobinaemia-forming substances. In most cases the duration of sulphhaemoglobinaemia is identical with the normal survival time of the red blood cells.

Chapter 2. Quantitative Determination of Haemoglobin.

For this purpose the author used partly gasometric and partly spectrophotometric methods. The gasometric methods were *van Slyke* and *Neill*'s method for determining oxygen capacity and *van Slyke* and *Hiller*'s method for determining carbon monoxide capacity. *Hunter*'s technique was used in the spectrophotometric determinations. One method was used for determining oxyhaemoglobin and another one for determining reduced haemoglobin.

Experiments were carried out by *Hunter*'s technique. In blood dilutions whose oxygen capacity had been determined gasometrically, the extinctions were measured at 575 mμ, and the extinction for oxyhaemoglobin showed rectilinear dependence on the oxygen capacity of the blood dilutions. The same experiment was performed with blood dilutions kept reduced by addition of sodium dithionite. The extinctions were measured at 555 mμ; those for reduced haemoglobin showed rectilinear dependence on the oxygen capacity of the blood dilutions. It was possible, thus, to determine the oxygen capacity of a blood sample either by using oxygenated blood and measuring the extinction at 575 mμ or by using reduced blood and measuring the extinction at 575 mμ and reading the curves.

Bloods from two normal subjects were submitted simultaneously to gasometric oxygen capacity determination, gasometric carbon monoxide capacity determination, and spectrophotometric oxygen capacity determination. The results of all methods were concordant.

Chapter 3. Qualitative and Quantitative Determination of Methaemoglobin.

Methaemoglobin has a characteristic absorption band at 630 mμ. The demonstration of this band serves as a rough qualitative test of methaemoglobin. Quantitative determination was carried out partly by a gasometric and partly by spectrophotometric techniques. The former was *van Slyke* and *Hiller*'s method for determining active haemoglobin and total haemoglobin. The spectrophotometric methods were partly a technique by which the extinction is measured at 630 mμ before and after addition of cyanide giving a relative measure of the methaemoglobin content of the sample, partly a technique advocated by *Hunter* by which the concentration of methaemoglobin may be found by measuring the extinction at 630 mμ and then using *Hunter*'s nomograph. In the spectrophotometric methods the total haemoglobin is found after reduction of methaemoglobin to reduced haemoglobin.

A series of blood samples containing methaemoglobin was made by adding varying quantities of sodium nitrite to blood whose total capacity had been determined beforehand. The methaemoglobin content in 18 blood samples was determined partly gasometrically and partly by the two spectrophotometric methods mentioned above. The gasometric technique and the spectrophotometric technique of adding cyanide gave concordant results, whereas *Hunter*'s method gave too low values.

Chapter 4. Qualitative and Quantitative Determination of Sulphhaemoglobin.

Spectroscopic demonstration of the characteristic absorption band of sulphhaemoglobin at 620 mμ is used as a rough qualitative test of sulphhaemoglobin. Only a few methods have been advocated for quantitative sulphhaemoglobin determination. The best ones are two spectrophotometric methods worked out by *Drabkin & Austin* and by *Lemberg et al.* Both have been worked out on the basis of spectrophotometric measurements of a number of sulphhaemoglobin-containing blood samples and approximate determination of the specific extinctions of sulphhaemoglobin at various wavelengths. *Lemberg et al.* pointed out that laboratory production of sulphhaemoglobin usually yielded choleglobin at the same time. They have advocated methods for determining choleglobin and also for determining choleglobin and sulphhaemoglobin in the same solution.

Present investigations: Sulphhaemoglobin-containing blood was prepared by bubbling hydrogen sulphide through blood. Thereby, sulphhaemoglobin and a smaller quantity of choleglobin were formed. To ascertain whether this also produced haemoglobin degradation products with liberation of iron, 16 blood samples were investigated for the quantity of haemoglobin-bound iron before and after addition of hydrogen sulphide. The content proved to be unaltered.

On a total of 30 blood samples containing sulphhaemoglobin, experimental determination of the specific extinctions for sulphhaemoglobin and carbon monoxide sulphhaemoglobin was carried out at the concentration 1 millimol/litre at 620 and 617 mμ respectively. The results were 13.0—13.2 and 16.1—16.6. In 16 blood samples containing sulphhaemoglobin, the absorption curves were measured between 500 and 700 mμ. On this basis, a theoretical curve for pure sulphhaemoglobin was constructed.

By means of the experimentally determined optic constants, the author succeeded in working out a technique for quantitative sulphhaemoglobin determination in mixtures of sulphhaemoglobin and oxyhaemoglobin or of sulphhaemoglobin and reduced haemoglobin. This method is also applicable in the presence of methaemoglobin.

On 20 sulphhaemoglobin-containing blood samples with a known total oxygen capacity, sulphhaemoglobin determination was carried out partly by gasometric analysis determining the oxygen capacity of the samples and determining sulphhaemoglobin as the difference between the total capacity and the oxygen capacity of the sample, partly by a spectrophotometric analysis advocated by *Lemberg*, and partly by the technique worked out by the author. The gasometric analyses and the author's technique gave concordant results, whereas *Lemberg*'s method gave too low results for total haemoglobin. The same result was obtained by using blood from patients with sulphhaemoglobinaemia.

The author's technique possesses the advantage, above *Lemberg*'s, that it is applicable also for sulphhaemoglobin determination, when the sample contains methaemoglobin.

Chapter 5. Theories on Carbhaemoglobin Compounds and Para-aminophenol as Causes of Drug-induced Cyanosis.

In 1942 *Kallner* advanced the theory that drug-induced cyanosis was due to the presence of carbon dioxide, being caused by a dark-stained complex compound of carbhaemoglobin and the drug.

Present investigations: Addition of sulphapyridine or acetanilide to blood was followed by increased absorption in the red part of the spectrum. Bubbling carbon dioxide through the blood further increased this absorption. Bubbling oxygen through it also increased the absorption. These samples

were centrifuged for 3 minutes at 2000 r.p.m. Thus, *Kallner*'s experiment could be reproduced also after centrifugation in an ordinary laboratory centrifuge. Since the increase in absorption might be imagined to be due to turbidity of the blood samples, further experiments were carried out, using blood samples centrifuged for 3 minutes at 17,000 r.p.m. These samples showed no alteration in absorption upon addition of sulphanilamide or acetanilide. Bubbling carbon dioxide through them also did not alter the absorption. Nor did the use of freshly drawn venous blood of a high carbon dioxide content show any alteration in absorption upon addition of sulphanilamide or acetanilide, if only the samples had been thoroughly centrifuged. This indicates that the increased absorption observed in the preliminary experiments was due to turbidities which were difficult to remove by centrifugation.

In an endeavour to find out whether, apart from methaemoglobin, there were other substances with abnormal absorption in the red part of the spectrum, 6 experiments were carried out, using methaemoglobin-containing blood and tracing the absorption curves between 500 and 700 mμ. At the same time, the absorption curves were computed provided that the samples contained only oxyhaemoglobin and methaemoglobin. All the curves showed a course corresponding to those representing mixtures of oxyhaemoglobin and methaemoglobin. They did not differ more from the computed curves than what may be accounted for by the uncertainty attaching to the methaemoglobin determination. The same result was obtained when using blood from a patient with methaemoglobinaemia. These experiments, accordingly, showed that the blood samples did not contain abnormally absorbing components other than methaemoglobin. Thus, the presence of methaemoglobin fully explained the colour alterations in the red part of the spectrum.

Young & Wilson, in 1926, reported that drug-induced cyanosis was due to accumulation in the blood of oxidation products of para-aminophenol. The present studies showed that para-aminophenol gives rise to intensive methaemoglobin formation and that colour alterations in the blood after addition of para-aminophenol are wholly explicable by the methaemoglobin which has been formed.

Chapter 6. Human Experiments on Methaemoglobin- and Sulphhaemoglobin-forming Substances.

Investigation of bloods from 18 normal subjects revealed less than 1 % methaemoglobin and no sulphhaemoglobin.

Experiments were performed using the methaemoglobin-forming substances chloraniline, chloracetanilide, chlornitrobenzene, and nitrophenetol. Chloraniline proved to be the best methaemoglobin-former. Twelve

subjects, receiving 10 mg chloraniline, formed from 2.7 to 40.1 % methaemoglobin in the course of 2 hours. At the end of 24 hours, the methaemoglobinaemia had almost disappeared. Administration of 5 mg chloraniline to 20 persons ranging in age from 31 to 80 revealed marked individual variations in methaemoglobin formation, but these variations were not related to age.

In 2 cases an attempt was made to induce chronic methaemoglobinaemia by the daily administration of 2.5 mg chloraniline. Each dose was followed by methaemoglobin formation, but the methaemoglobin disappeared a few hours later, so chronic methaemoglobinaemia could only be maintained on constant administration of tablets.

Mild sulphhaemoglobinaemia was induced in 3 subjects by administration of a solution of magnesium sulphate, 10 g 3 times daily for 5½ weeks. Simultaneous administration of a solution of magnesium sulphate, 10 g 3 times daily and chloraniline, 2½ mg twice daily for several weeks, induced in 3 subjects sulphhaemoglobinaemia (7—11.1 % sulphhaemoglobin in the blood).

In order to ascertain whether formation of sulphhaemoglobin following administration of magnesium sulphate and chloraniline could be prevented by preventing the formation of hydrogen sulphide in the intestine, the intestine was sterilized by aureomycin before magnesium sulphate and chloraniline were started. In 6 experiments this procedure prevented the formation of sulphhaemoglobin. On the other hand, methaemoglobin formation following chloraniline proved independent of preceding aureomycin therapy.

To ascertain possible alterations in the methaemoglobin content of blood after the sample has been left standing for some time before the analysis, normal blood was examined shortly after removal and again at the end of 24 hours. This showed that if the blood stood undiluted no methaemoglobin-formation occurred within the 24 hours, but if it was diluted 1:50 there was ample methaemoglobin formation. Blood containing methaemoglobin was examined ½, 24, 48, and 72 hours after removal. If it was left standing at + 3° C, there was a considerable decrease in methaemoglobin even within the first 24 hours, whereas in bloods standing at ÷ 20° C the methaemoglobin content remained approximately unchanged throughout 48 hours.

The results were the same with heparinized, oxalated, and citrated blood.

Chapter 7. Investigation of Patients with Methaemoglobinaemia and Sulphhaemoglobinaemia.

During a period of 2½ years the investigation of about 200 blood specimens from patients with presumed drug-induced cyanosis at "*Sygekasse-*

lægernes Organisations Laboratorium", Copenhagen, revealed in 93 abnormal amounts, i. e. at least 2 %, methaemoglobin or sulphhaemoglobin.

Among these 93 cases 57 had isolated methaemoglobinaemia, 18 had isolated sulphhaemoglobinaemia, and 18 combined methaemoglobinaemia and sulphhaemoglobinaemia. Perusal of the case records showed that in most cases these abnormalities were caused by the common analgetics administered to allerviate chronic pain in the locomotor system (30 cases) or pain in other sides. Similar drugs taken because of psychic disturbances were responsible in 26 cases. Sulphamethizole had been received by 3 because of purulent meningitis and by 9 because of pyuria. Five patients with sulphhaemoglobinaemia had been taking sulphate because of constipation.

A common feature of all the ingested drugs was their content of phenacetin, acetanilide, sulphonamide, or sulphate. Out of the patients with isolated methaemoglobinaemia 40 had taken phenacetin, 7 acetanilide, 8 sulphamethizole, while 3 denied having taken drugs. Out of the patients with isolated sulphhaemoglobinaemia 11 had taken phenacetin, 2 acetanilide, and 5 sulphate. Lastly, out of the patients with combined methaemoglobinaemia and sulphhaemoglobinaemia 17 had taken phenacetin, 2 acetanilide, 2 sulphamethizole, and 2 sulphates.

Intestinal disturbances, constipation or diarrhoea, were present in 20 of the 57 patients with isolated methaemoglobinaemia, in 9 out of the 18 with isolated sulphhaemoglobinaemia, and in 14 out of the 18 with combined methaemoglobinaemia and sulphhaemoglobinaemia.

Forty-two out of the 93 patients had anaemia with a haemoglobin level lower than 80 %. Twenty-five of them had, in addition to methaemoglobinaemia or sulphhaemoglobinaemia, a disease producing anaemia. Anaemia was a rare finding in cases with methaemoglobinaemia, whereas it was common in patients showing sulphhaemoglobinaemia.

Methaemoglobinaemia disappeared in from one to two days after withdrawal of the responsible drug. Sulphhaemoglobinaemia, on the other hand, persisted for months.

In a particular case, follow-up showed that the sulphhaemoglobinaemia persisted for more than 56 days. The concentration fell rapidly during the first days and then slowly in the course of several weeks. The follow-up on this patient indicated that some of the sulphhaemoglobin-containing red cells had a shorter survival time than normal red cells.

LITTERATURFORTEGNELSE

Tidsskrifternes navne er forkortet i overensstemmelse med „Quarterly Cumulative Index Medicus". De i parentes anførte tal henviser til de sider i afhandlingen, paa hvilke forfatteren er citeret.

Håndbøger og oversigtsarbejder:

Bodansky, O.: *Pharmacol. Rev.* 1951, *3*:144–196.

Gibson, Q. H.: *Biochem. Soc. Symp.* 1954, *12*:55–70.

Hunter, F. T.: *The quantitation of mixtures of hemoglobin derivatives by photoelectric spectrophotometry.* 1. udg. Springfield 1951. (33, 40, 42).

Kemp, T.: *Statistiske metoder i medicin og biologi.* 1. udg. København 1942.

Lemberg, R. og J. W. Legge: *Hematin compounds and bile pigments,* 1. udg. New York 1949.

Osol, A. og G. E. Farrar: *The dispensatory of the United States of America,* 24. udg. Philadelphia 1947, p. 1332 og 1692. (22).

Peters, J. P. og D. D. van Slyke: *Quantitative clinical chemistry,* 1. udg., vol. 2, London 1932, p. 321–324 og 349–352. (31).

Sumner, J. B. og K. Myrbäck: *The enzymes.* 1. udg., vol. 2, part 1. New York 1951.

Øvrige arbejder:

Ammundsen, E.: *Ugesk. f. Læger.* 1937, *99*:908–910. (17).

Ammundsen, E.: *Om ikke-kuliltebindende hæmoglobin i blodet under normale og pathologiske forhold.* København 1939. (17, 32, 94, 121).

Ammundsen, E. og M. Trier: *Ugesk. f. Læger.* 1939, *101*:271–274. (17).

Ammundsen, E.: *J. Biol. Chem.* 1941, *138*:563–570. (17).

Araki, T.: *Ztschr. f. physiol. Chem.* 1890, *14*:405–415. (23).

Archer, H. E. og G. Discombe: *Lancet.* 1937, *233*:432–435 (25, 101).

Barcroft, H., Q. H. Gibson, D. C. Harrison og J. McMurray: *Clin. Sc.* 1944, *5*:145–157. (16).

Barcroft, J., R. H. E. Elliot, L. B. Flexner, F. G. Hall, W. Herkel, E. F. McCarthy, T. Mc Clurkin og M. Talaat: *J. Physiol.* 1935, *83*:192–214. (20).

Barcroft, J.: *Physiol. Rev.* 1936, *16*:103–128. (20).

Barfoed, P.: *Ugesk. f. Læger.* 1945, *107*:718–719. (26).

Barkan, G. og O. Schales: *Ztschr. f. physiol. Chem.* 1937, *248*:96–116. (50).

Barkan, G. og O. Schales: *Ztschr. f. physiol. Chem.* 1938a, *254*:241–249. (24).

Barkan, G. og O. Schales: *Nature* 1938b, *142*:836–837. (50).

Barkan, G. og B. S. Walker: *Science* 1942, *96*:66–68. (23).

Begg, T. B.: *Brit. M. J.* 1955, *1*:701–703. (27, 28).

Bennecke, H. og W. Hoffmann: *München med. Wchnschr.* 1906, *53*:945. (18).

Bensley, E. H., L. J. Rhea og E. S. Mills: *Quart. J. Med.* 1938, *7*:325–330. (16).

Bergh, A. A. H. van den: *Deutsches Arch. klin. Med.* 1905, *83*:86–106. (13, 23, 24, 26, 103, 121).

Bergh, A. A. H. van den og A. Grutterink: *Berlin. klin. Wchnschr.* 1906, *43*:7–10. (23, 26).

Bergh, A. A. H. van den og H. Engelkes: *Nederl. tijdschr. geneesk.* 1922a, *66*:2:2499–2509. (12, 24).
Bergh, A. A. H. van den og H. Engelkes: *Nederl. tijdschr. geneesk.* 1922b, *66*:2:2510–2519. (12, 24).
Bergh, A. A. H. van den og F. E. Revers: *Deutsche med. Wchnschr.* 1931, *57*:706–708. (12, 24, 27).
Bernhart, P. W. og L. Skeggs: *J. Biol. Chem.* 1943, *147*:19–22. (30).
Bingold, K.: *Med. Klin.* 1940, *36*:158–160. (28).
Bischoff, H.: *Ztschr. ges. exper. Med.* 1926, *48*:472–489. (20).
Bjardon, K.: *Ugesk. f. Læger* 1956, *118*:45–46. (20).
Bjerre, H.: *Ugesk. f. Læger* 1932, *94*:733–734. (20).
Bodansky, O. og H. Gutmann: *J. Pharmacol. and Exper. Therap.* 1947, *90*:46–56. (19, 22).
Brandenburg, R. O. og H. L. Smith: *Am. Heart. J.* 1951, *42*:582–588. (28, 121).
Breakey, V. K. S. G., Q. H. Gibson og D. C. Harrison: *Lancet* 1951, 1:935–938. (16).
Bredow, M. von og F. Jung: *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* 1942–43, *200*:335–355. (19).
Brinkman, R., A. Wildschut og A. Wittermans: *J. Physiol.* 1934, *80*:377–387. (20).
Brinkman, R. og J. H. P. Jonxis: *J. Physiol.* 1935, *85*:117–127. (20).
Brownlee, G.: *Biochem. J.* 1939, *33*:697–708. (19).
Brøchner-Mortensen, K. og C. Olsen: *Nord. med.* 1940, *8*:2502–2506. (58).
Böhme, A.: *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* 1907, *57*:441–453. (18).

Campbell, D. og T. N. Morgan: *Lancet* 1939, *237*:123–127. (20, 25, 27, 28, 101).
Campbell, W. A. B.: *Brit. M. J.* 1952, *2*:371–373. (21).
Campbell, W. R. og R. F. Farquharson: *Am. Soc. Clin. Invest.* 1937, *4*:453–454. (26).
Carey, B. W. og J. L. Wilson: *J. Pediat.* 1940, *17*:38–43. (20).
Chernoff, A. J.: *Blood*, 1953a, *8*:399–412. (21).
Chernoff, A. J.: *Blood*, 1953b, *8*:413–421. (21).
Christensen, O.: *Med. aarsskrift* 1891, 36–78. (12, 19).
Clark, B. B., E. J. van Loon og W. L. Adams: *Am. J. Physiol.* 1943, *139*:64–69. (21).
Clark, E. B.: *J. A. M. A.* 1947, *135*:917–918. (20).
Clarke, T. W. og W. H. Hurtley: *J. Physiol.* 1907–08, *36*:62–67. (24).
Clarke, T. W. og R. M. Curtis: *Med. Rec.* 1910, *78*:987–991. (26).
Clemmesen, C.: *Ugesk. f. Læger* 1933, *95*:766. (19).
Codounis, A.: *Brit. M. J.* 1952, *2*:368–371. (16).
Colebrook, L.: *Lancet* 1936, *230*:1279–1286. (24, 27).
Comly, H. H.: *J. A. M. A.* 1945, *129*:112–116. (13, 21).
Conant, J. B. og N. D. Scott: *J. Biol. Chem.* 1926, *69*:575–587. (14).
Conant, J. B. og N. D. Scott: *J. Biol. Chem.* 1928, *76*:207–222. (14).
Conant, J. B., N. D. Scott og W. F. Douglass: *J. Biol. Chem.* 1928, *76*:223–227. (33).
Cox. W. W. og W. B. Wendel: *J. Biol. Chem.* 1942, *143*:331–340. (15).
Coxon, R. V. og J. P. Crawford: *Brit. M. J.* 1940, *2*:556. (27).

Daniels, A. P.: *Nederl. tijdschr. geneesk.* 1937, *81*:1837. (27, 28).
Darling, R. C. og F. J. W. Roughton: *Am. J. Physiol.* 1942, *137*:56–68. (21).
Davis, H.: *Lancet* 1912, *2*:1145–1146. (26).
Deeny, J., E. T. Murdock og J. J. Rogan: *Brit. M. J.* 1943, *1*:721–723. (16).
Dennig, A.: *Deutsches Arch. klin. Med.* 1900, *65*:524–541. (19).
Discombe, G.: *Lancet* 1937, *232*:626–627. (27).
Dittrich, P.: *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* 1892, *29*:247–281. (12, 19, 20).
Dod, K. S., H. R. Bierman og B. Shimkin: *J. Nat. Cancer Inst.* 1951, *11*:1093–1103. (25, 26, 49, 128).
Dornhorst, A. C.: *Blood* 1951, *6*:1284–1292. (127).

Drabkin, D. L. og J. H. Austin: *J. Biol. Chem.* 1932, *98*:719–733. (40).
Drabkin, D. L. og J. H. Austin: *J. Biol. Chem.* 1935a, *112*:51–65. (46).
Drabkin, D. L. og J. H. Austin: *J. Biol. Chem.* 1935b, *112*:67–88. (40).
Drabkin, D. L. og C. F. Schmidt: *J. Biol. Chem.* 1945, *157*:69–83. (17, 94).

Eder, H. A., C. Finch og R. W. McKee: *J. Clin. Invest.* 1949, *28*:265–272. (16, 17).
Ellinger, P.: *Ztschr. f. physiol. Chem.* 1920, *111*:86–125. (19).
Espersen, T.: *Ugesk. f. Læger* 1937, *99*:993–999. (19).
Eusterman, G. B. og N. K. Keith: *M. Clin. North America* 1929, *12*:1489–1496. (18).
Evans, A. S., N. Enzer, H. A. Eder og C. A. Finch: *Arch. Int. Med.* 1950, *86*:22–34. (28, 129).
Evelyn, K. A. og H. T. Malloy: *J. Biol. Chem.* 1938, *126*:655–662. (40, 49).
Ewing, M. C. og R. M. Mayon-White: *Lancet* 1951, *1*:931–34. (21).

Faber, M., R. Keiding og V. Kornerup: ikke publiceret arbejde 1956. (130).
Faucet, R. L. og H. C. Miller: *J. Pediat.* 1946, *29*:593–596. (21).
Fichter, E. G.: *Am. J. Dis. Child.* 1954, *88*:749–753. (27).
Finch, C. A.: *New England J. Med.* 1948, *239*:470–478. (22, 23).
Fox, C. L.: *J. Clin. Invest.* 1940, *19*:123–127. (20).
Franklin, A.W.: *Proc. Roy. Soc. Med.* 1942, *35*:2:686. (28).

Gad, I., E. Jacobsen, S. Madsen og K. Schmith: *Ugesk. f. Læger* 1950, *112*:1405–1411. (20).
Garrod, L. P.: *Quart. J. Med.* 1925–26, *19*:86–94. (24, 26).
Gasul, B. M., E. H. Fell, R. Casas og R. Pereiras: *J. A. M. A.* 1952, *149*:258–260. (16).
Gelinsky, G.: *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* 1940, *195*:460–464. (15).
Gibson, Q. H. og D. C. Harrison: *Lancet* 1947, *253*:941–943. (16).
Gintrac, E.: *Recherches analyticues sur diverses affections, dans lesquelles la peau presente une coloration bleu, et en particulies sur celles, que l'on a designees sous le nom de cyanose au maladie bleu.* Paris 1814. (Citat fra Stokvis, B. J.: Internat. Beitr. z. inn. Med. 1902, 1:597–610) (11).
Giordano, C. og E. C. Vigliani: *Arch. sc. med.* 1937, *64*:137–220. (23, 27).
Glahn, M. og P. Schack-Schou: *Nord. med.* 1947, *36*:2135–2136. (20).
Gley, M. P.: *Bull. Acad. nat. méd.* 1937, *118*:377–382. (27, 28).
Graubarth, J., C. J. Bloom, F. C. Coleman og H. N. Soloman: *J. A. M. A.* 1945, *128*:1155–1157. (21, 22).
Greenberg, L. A., D. Lester og H.W. Haggard: *J. Biol. Chem.* 1943, *151*:665–673. (18).
Greenberg, L. A. og D. Lester: *J. Pharmacol. and Exper. Therap.* 1946, *88*:87–98. (19).
Greenberg, L. A. og D. Lester: *J. Pharmacol. and Exper. Therup.* 1947, *90*:150–153. (19).
Gross, M.: *Acetanilid*, Hillhouse press, New Haven 1946. (19).
Gutmann, H. R., B. J. Jandorf og O. Bodansky: *J. Biol. Chem.* 1947, *169*:145–152. (16).

Hald, J.: *Dansk tidsskrift for farmaci* 1950a, *24*:183–195. (20).
Hald, J.: *Dansk tidsskrift for farmaci* 1950b, *24*:195–202. (20).
Haldane, J., R. H. Makgill og A. E. Mavrogordato: *J. Physiol.* 1897, *21*:160–189. (18).
Harris, J. S. og H. O. Michel: *J. Clin. Invest.* 1939, *18*:507–519. (19).
Harrop, G. A. og R. L.Waterfield: *J. A. M. A.* 1930, *95*:647–650. (25, 27).
Hartmann, A. F., A. M. Perley og H. L. Barnett: *J. Clin. Invest.* 1938, *17*:699–710. (19).
Haurowitz, F.: *Ztschr. f. physiol. Chem.* 1926, *151*:130–144. (24, 46).
Hauschild, F.: *Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol.* 1936, *182*:118–131. (22).
Havemann, R., F. Jung og B. von Issekutz jun.: *Biochem. Ztschr.* 1939, *301*:116–124. (17, 40, 94).
Healey, J. C.: *J. Lab. and Clin. Med.* 1932–33, *18*:348–354. (27).
Henriques, O. M.: *Über Carbhämoglobin*, 1929, Ergebn. d. Physiol. bind 28. (71).
Henstell, H. H. og W. Dameshek: *J. Clin. Invest.* 1936, *15*:464. (23, 26).
Herrmann, E.: *Ugesk. f. Læger* 1890, *22*:614–618. (19).

Herrmann, E.: *Ugesk. f. Læger* 1891, *23*:18–23. (19).
Heubner, W.: *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* 1913, *72*:241–281. (19).
Heubner, W. og G. Schwedtke: *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* 1937, *183*:80–82. (19).
Heubner, W. og Lo-Sing: *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* 1938, *188*:143–151. (19).
Heubner, W.: *Ergebn. d. Physiol.* 1940, *43*:9–56. (17, 94).
Hindse-Nielsen, S.: *Ugesk. f. Læger* 1920, *82*:1157–63. (20).
Hitzenberger, K.: *Wien. Arch. f. inn. Med.* 1933, *23*:85–96. (13, 16).
Hoppe-Seyler, F.: *Centr. med. Wiss.* 1863, *1*:433–434. (12, 23, 24, 45, 46).
Hoppe-Seyler, F.: *Centr. med. Wiss.* 1865, *5*:65–68. (12, 39).
Hoppe-Seyler, F.: *Centr. med. Wiss.* 1866, *6*:436–438. (23).
Horecker, B. L.: *J. Biol. Chem.* 1943, *148:*173-183. (40).
Horecker, B. L. og F. S. Brackett: *J. Biol. Chem.* 1944, *152*:669–677. (40).
Howarth, B. E.: *Lancet* 1951, *1*:934–935. (21).
Hüfner, G.: *Arch. Anat. Physiol.* 1894, 130–176. (30).

Ipsen, J.: *Dansk med. Selsk. Forh.* 1927, 30–47. (12).
Issekutz, B. von: *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* 1939, *193*:551–571. (18, 19).
Ivens, W. H. J. og J. M. von Vollenhoven: *Nederl. tidjsk. geneesk.* 1925, *69*:447–452. (26, 27).

Jacobsen, E.: *Ugesk. f. Læger* 1949, *111*:1243–1244. (20).
Jamison, R. A.: *Quart. J. Med.* 1918–19, *12*:81–87. (26).
Jope, E. M.: *Brit. J. Indust. Med.* 1946, *3*:136–142. (26, 27, 49, 127).
Jung, F.: *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* 1939, *192*:464–471. (15).
Jung, F.: *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* 1940, *194*:16–30. (24).

Kallner, S.: *Acta med. scandinav. suppl.* 1942, *129–30*:1–110. (13, 17, 32, 71, 94).
Keilin, D.: *Proc. Roy. Soc.*, London 1933, *113B*:393–404. (24).
Kiese, M.: *Biochem. Ztschr.* 1944, *316*:264–294. (16).
Kiese, M.: *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* 1947. *204*:288–312. (15).
King, E. J., J. C. White og M. Gilchrist: *J. Path. and Bact.* 1947, *59*:181–188. (16).
King, E. J., M. Gilchrist, I. D. P. Wootton, R. Donaldson, R. B. Sisson, R. G. MacFarlane, H. M. Jope, J. R. P. O'Brien, J. M. Peterson og D. H. Strangeways: *Lancet* 1947, *253*:789–792. (37).
Kornerup, V. og M. Faber: *Nord. Med.* 1956, *55*:830–833. (21).
Küster, W.: *Chem. der Zelle u. Gewebe* 1926, *12*:1–21. (14).

Lazarus, S.: *Brit. M. J.* 1945, *2*:565–566. (27).
Leiner, G. og H. Minibeck: *Wien. klin. Wchnschr.* 1935, *48*:1547. (16).
Lemberg, R., J. W. Legge og W. H. Lockwood: *Nature* 1938, *142*:148–149. (50).
Lemberg, R., J. W. Legge og W. H. Lockwood: *Biochem. J.* 1939, *33*:754–758. (14, 51).
Lemberg, R., J. W. Legge og W. H. Lockwood: *Biochem. J.* 1941 a, *35*:328–338. (51).
Lemberg, R., J. W. Legge og W. H. Lockwood: *Biochem. J.* 1941 b, *35*:339–352. (51, 52).
Lemberg, R., J. W. Legge og W. H. Lockwood: *Biochem. J.* 1941 c, *35*:363–379. (51).
Lemberg, R. og J. W. Legge: *Australian J. Exper. Biol. and M. Sc.* 1942, *20*:65–68. (51).
Lemberg, R., H. F. Holden, L. W. Legge og W. H. Lockwood: *Australian J. Exper. Biol. and M. Sc.* 1942, *20*:161–167. (23, 24, 25, 28, 29, 46, 49, 50, 53, 54).
Lépine, R.: *La semaine medicale 1886*, *6*:473–474. (12, 19).
Lester, D.: *J. Pharmacol. and Exper. Therap.* 1943, *77*:154–159. (19).
Lester, D. og L. A. Greenberg: *J. Pharmacol. and Exper. Therap.* 1944, *81*:182–188. (22).
Lian, C., P. Frumusan og Sassier: *Bull. et mém. Soc. méd. hôp. Paris* 1939, *55*:1194–1203. (16, 22).
Lier, H. W. van: *Over de parhaemoglobinaemien.* Utrecht 1933. (16, 23, 27).
Lipschitz, W.: *Ztschr. f. physiol. Chem.* 1920, *109*:189–258. (19).
Lockwood, J. S., A. F. Coburn og H. E. Stokinger: *J. A. M. A.* 1938, *111*:2259–2264. (20).

Long, W. C. og E. I. Spriggs: *Quart. J. Med.* 1917–18, *11*:102–111. (24, 26).
Loon, E. J. van, B. B. Clark og D. Blair: *J. Lab. and Clin. Med.* 1944, *29*:942–956. (22).
Lundsgaard, Chr. og D. D. van Slyke: *Cyanosis*, Baltimore 1923. (11).
Lundsteen, E., E. Meulengracht og A. Richel: *Ugesk. f. Læger* 1937, *99*:155–162. (13, 14, 19, 86).

Maier, C., A. Bühlmann og M. Hotz: *Ztschr. ges. exper. Med.* 1952, *118*:105–108. (27, 29).
Marchand, F., *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* 1887, *22*:201–232. (12).
Mason, V. R. og F. D. Conroy: *Johns Hopkins Hosp. Bull.* 1921, *32*:391–394. (26).
Medovy, H., W. C. Guest og M. Victor: *Canad. M. A. J.* 1947, *56*:505–508. (21).
Meulengracht, E. og E. Lundsteen: *Folia haemat.* 1940, *63*:89–99. (86).
Michel, H.: *J. Biol. Chem.* 1938, *126*:323–348. (23, 24, 46).
Michel, H. og J. S. Harris: *J. Lab. and Clin. Med.* 1940, *25*:445–463. (40).
Miller, G. E.: *Gastroenterology* 1945, *4*:430–434. (18).
Miller, R. C.: *Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.* 1944, *19*:308–311. (17, 27). (18, 23).
Müller, E.: *Hospitalstidende* 1887a, *5*:913–921. (12, 19).
Müller, E.: *Hospitalstidende* 1887b, *5*:937–947. (12, 19).

Neill, J. M.: *J. Exper. Med.* 1925a, *41*:299–313. (15).
Neill, J. M.: *J. Exper. Med.* 1925b, *41*:535–549. (15).
Neill, J. M.: *J. Exper. Med.* 1925c, *41*:551–560. (15).
Neill, J. M.: *J. Exper. Med.* 1925d, *41*:561–570. (15).
Neuland, W.: *Med. Klin.* 1921, *17*:903–905. (21).
Nicloux, M. og G. Fontès: *Bull. Soc. chim. biol.* 1924, *6*:728–741. (31).
Nijveld, H. A. W.: *Rec. trav. chim.* 1943, *62*:293–324. (23, 48).
Nowak, J. og C. Gütig: *Berlin. klin. Wchnschr.* 1908, *45*:1764–1768. (18).

Oettingen, W. F. von: *U. S. Pub. Health Service, Pub. Health Bull.* 1944, 285. (20).

Paton, J. P. J. og J. C. Eaton: *Lancet* 1937, *232*:1159–1162. (27, 28).
Paul, W. D. og C. R. Kemp: *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* 1944, *56*:55–56. (17, 94).
Paulsen, A.: *Med. aarsskrift* 1895:83–150. (19).
Petsch, E.: *Zentralbl. Gynäk.* 1939, *63*:2:1076–1079. (27).

Ramsay, W. N. M.: *Biochem. J.* 1944, *38*:470–473. (17, 94).
Rappaport, F. og K. Köck-Molnar: *J. Biol. Chem.* 1934, *104*:29–31. (31).
Raven, M. O.: *Guy's Hosp. Rep.* 1928, *78*:275–278. (23).
Ray, G. B., H. A. Blair og C. I. Thomas: *J. Biol. Chem.* 1932, *98*:63–83. (40).
Rayner, W.: *Brit. M. J.* 1886, *1*:294. (12, 21).
Reiter, M.: *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* 1948, *205*:327–331. (19).
Reynolds, T. B. og A. G. Ware: *J. A. M. A.* 1952, *149*:1538–1541. (27).
Richardson, A. P.: *J. Pharmacol. and Exper. Therap.* 1941, *71*:203–209. (25).
Rieders, F. og H. Brieger: *J. A. M. A.* 1953, *151*:1953. (20).
Rimington, C.: *Proc. Roy. Soc. Med.* 1939, *32*:351–356. (19, 20).
Rimington, C. og A. W. Hemmings: *Biochem. J.* 1939, *33*:960–977. (19, 20).
Rivier, J. L. og A. Gonella: *Helvet. Med. Acta* 1946, *13*:289–294. (27).
Roe, H. E.: *J. A. M. A.* 1933, *101*:352–354. (18).
Russell, A. E.: *Tr. path. soc. London* 1907, *58*:177–183. (26).

Sakurai, K.: *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* 1925, *109*:214–232. (18).
Schapira, G. og J. Kruh: *Exposés Annuels de Biochimie Médicale* 1951, *3*:285–323. (129).
Schjerning-Thiesen, K.: *Nord. vet. med.* 1953, *5*:73–78. (14).
Schmith, K. og S. Madsen: *Ugesk. f. Læger* 1950, *112*:1411–1412. (15, 20).
Schrader, G.: *Chem. Zentralbl.* 1941, *112*:3545. (18).

Sievers, R. F. og J. B. Ryon: *Arch. int. Med.* 1945, *76*:299–307. (16).
Slyke, D. D. van og J. M. Neill: *J. Biol. Chem.* 1924, *61*:523–573. (31).
Slyke, D. D. van og A. Hiller: *J. Biol. Chem.* 1929, *84*:205–210. (31).
Slyke, D. D. van, A. Hiller, Weisiger og W. O. Cruz: *J. Biol. Chem.* 1946, *166*:121–148. (17, 94).
Smith, P. K.: *Am. J. M. Sc.* 1940, *200*:183–184. (20, 25).
Snapper, I.: *Nederl. tidjschr. geneesk.* 1922, *66*:2520–2526. (12, 24, 25, 27, 103).
Snapper, I.: *Deutsche med. Wchnschr.* 1925, *51*:648–650. (25, 27, 101, 103, 105).
Specht, W. og G. Schirm: *Deutsche Ztschr. ges. gerichtl. Med.* 1942, *36*:197–209. (25).
Spicer, S. S.: *J. Pharmacol. and Exper. Therap.* 1950, *99*:185–194. (19).
Stokvis, B. J.: *Internat. Beitr. z. inn. Med.* 1902, *1*:597–610. (13, 22).
Sunderman, F. W., D. A. MacFadyen, G. F. Stevenson og B. E. Copeland: *Am. J. Clin. Path.* 1953, *23*:519–598. (30).
Sundin, T.: *Nord. Med.* 1951, *45*:280–281. (27).

Talma, S.: *Berlin klin. Wchnschr.* 1902, *39*:865–867. (13, 22).
Tarr, L.: *Arch. int. Med.* 1933, *51*:38–44. (18).
Tepperman, J., O. Bodansky og B. J. Jandorf: *Am. J. Physiol.* 1946, *146*:702–709. (21).
Thienen, G. J.: *Nederl. tijdschr. geneesk.* 1933, *77*:1086–1092. (16).
Todd, A. T.: *Am. J. M. Sc.* 1926, *171*:635–641. (24, 27, 28).
Traxler, P. S.: *M. Bull. Vet. Admin.* 1943, *20*:227. (23).

Vandenbelt, J. M., C. Pheiffer, M. Kaiser og M. Sibert: *J. Pharmacol. and Exper. Therap.* 1948, *80*:31–38. (19, 22, 40).
Vigness, I., C. J. Watson og W. W. Spink: *J. Clin. Invest.* 1940, *19*:83–87. (19).

Wallis, R. L. M.: *Quart. J. Med.* 1913–14, *7*:73–91. (24, 26).
Warburg, O. og W. Christian: *Biochem. Ztschr.* 1931, *242*:206–227. (15, 106).
Warburg, O., W. Christian og A. Griese: *Biochem. Ztschr.* 1935, *282*:157–205. (15).
Waterfield, R. L.: *Guy's Hosp. Rep.* 1928, *78*:265–274. (23, 26).
Webb, T. J. og M. Kniazuk: *J. Biol. Chem.* 1939, *128*:511–523. (20, 25).
Weinberg, A. A.: *Am. J. Obst. and Gynec.* 1931, *21*:104–108. (21).
Wendel, W. B.: *J. Clin. Invest.* 1939, *18*:179–185. (22).
Wendel, W. B., N. M. Wendel og W. W. Cox: *J. Biol. Chem.* 1939, *131*:177–185. (20).
West, S. og T. W. Clarke: *Lancet* 1907, *1*:272–276. (26).
Wynter, E.: *Proc. Roy. Soc. Med.* 1908, *1*:197–198. (26).

Young, A. G.: *J. Pharmacol. and exper. Therap.* 1926, *27*:125–131. (20).
Young, A. G. og J. A. Wilson: *J. Pharmacol. and Exper. Therap.* 1926, *27*:133–148. (13, 85).

SAGREGISTER

Carbhæmoglobin 71
Kallners teori om carbhæmoglobinkomplexer som årsag til cyanose 13, 71
Choleglobin 28, 50
egenskaber 51
forekomst i den menneskelige organisme 28, 54
kvantitativ bestemmelse af choleglobin 51, 60
kvantitativ bestemmelse af choleglobin og sulfhæmoglobin i samme opløsning 54
Cyanose 11
cyanose ved cardiopulmonal insufficiens 11
enterogen cyanose 13
medicamentel cyanose 12, 14
Foetalt hæmoglobin 20, 99
Hæmoglobinbestemmelse 30
gasometrisk iltkapacitetsbestemmelse . 31
gasometrisk kuliltekapacitetsbestemmelse 31
spektrofotometrisk bestemmelse 33
Hæmoglobinbundet jern 58
Hüfnerkonstanten 30
Methæmoglobin 14, 39
betydningen af hurtig analyse for methæmoglobin 106
dannelse af methæmoglobin in vitro 14
dannelse af methæmoglobin in vivo 14, 17
egenskaber 14, 39
forskellige dyrearters evne til at danne methæmoglobin 18
in vitro forsøg med fremstilling af methæmoglobin 74
kvalitativ prøve for methæmoglobin 39
kvantitativ bestemmelse af methæmoglobin 39
gasometrisk bestemmelse 32, 40
Hunters spektrofotometriske metode 42
spektrofotometrisk cyanidteknik ... 40
methæmoglobin i blod fra normale 17, 95
methæmoglobinreducerende enzymer 15
spontan methæmoglobindannelse ... 106
spontan methæmoglobinreduktion 15, 107
Methæmoglobinæmi 12, 14, 109
behandling af methæmoglobinæmi .. 22
enterogen methæmoglobinæmi 22
experimentel methæmoglobinæmi efter chloranilin 95
familiær methæmoglobinæmi 13, 16
methæmoglobinæmi efter indtagelse af
acetanilid 19, 118
anilin 20
nitrobenzol 20
phenacetin 19, 118
sulfonamid 20, 118
methæmoglobinæmi hos spædbørn 13, 20, 21
efter indtagelse af nitratholdigt vand 21
efter anilinfarvestof 21
sygelige tilstande, der giver anledning til indtagelse af methæmoglobindannende medikamenter 110
symptomer ved methæmoglobinæmi . 21
varighed af methæmoglobinæmi 124
Paraaminofenol 13, 80
teori om paraaminofenol som årsag til medicamentel cyanose 13, 85
experimentelle undersøgelser med paraaminofenol 90
Sulfhæmoglobin 12, 23, 45
absorptionskurve 48, 65
dannelse in vitro 24
dannelse in vivo 24
egenskaber 23, 45
fremstilling af sulfhæmoglobin 46, 55
kvalitativ prøve for sulfhæmoglobin .. 45
kvantitativ bestemmelse af sulfhæmoglobin 46
Drabkin og Austins teknik 46

egen teknik 66
Lembergs teknik 49, 67
specifik extinction for sulfhæmoglobin ved 620 mμ 62
specifik extinction for kuliltesulfhæmoglobin ved 617 mμ 65
undersøgelse af normale for sulfhæmoglobin 95
Sulfhæmoglobinæmi 12, 23, 109
anæmi ved sulfhæmoglobinæmi 121
enterogen sulfhæmoglobinæmi .. 26, 103
experimentelt fremkaldt sulfhæmoglobinæmi 100
sulfhæmoglobinæmi efter indtagelse af
acetanilid 24, 27, 118
phenacetin 24, 27, 118
sulfonamid 24, 27, 119
svovl eller magniumsulfat . 24, 27, 119
sygdomme der giver anledning til indtagelse af sulfhæmoglobinfremkaldende stoffer 118
symptomer ved sulfhæmoglobinæmi . 120
tarmforstyrrelser som årsag til sulfhæmoglobinæmi 120
varighed af sulfhæmoglobinæmi 26, 29, 124

BIANCO LUNO A/S, KBH.